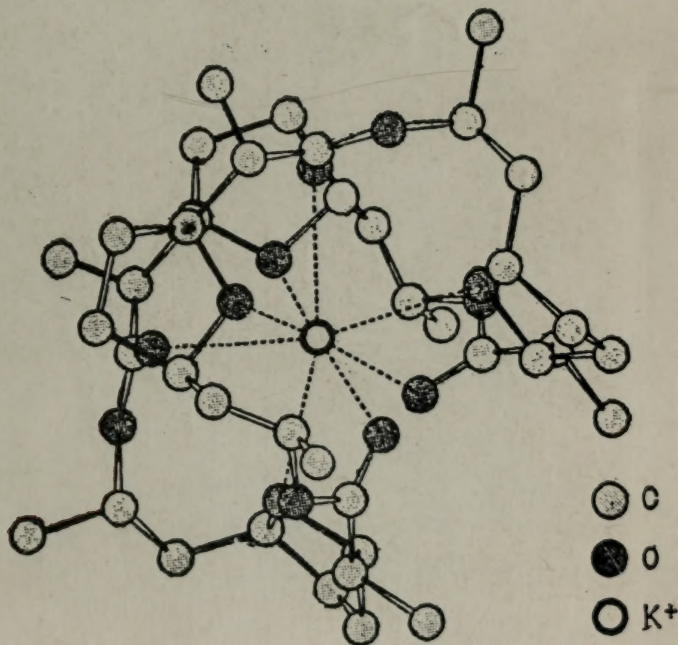
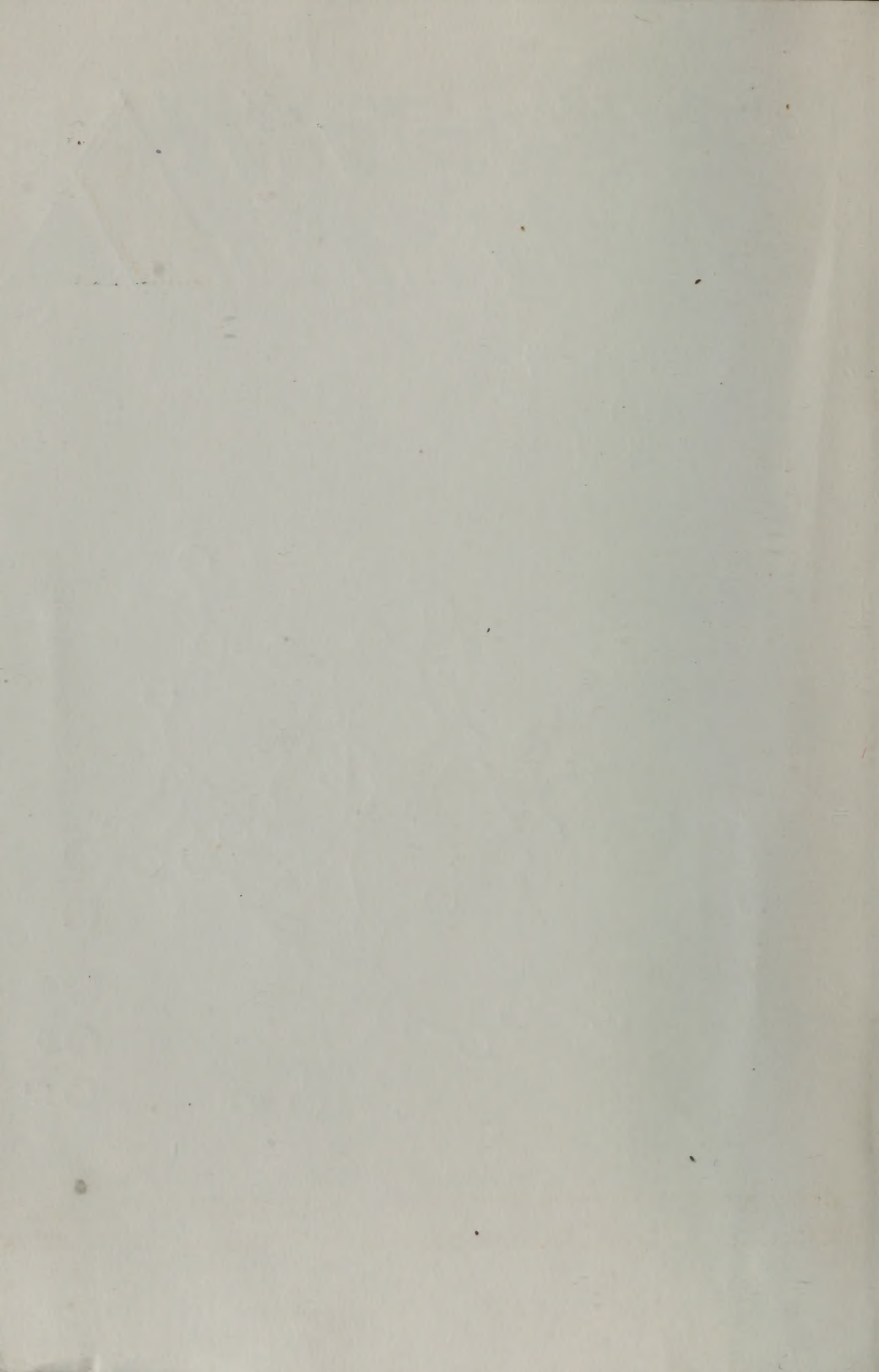


生物无机 化学入门

中原昭次 山内脩 著
吴炳辅 吴炳昌 译
南开大学出版社



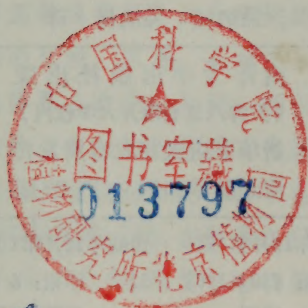


58.1741
140

生物无机化学入门

〔日〕 中原昭次 著
山内脩

吴炳辅 译
吴炳昌



南开大学出版社

中科院植物所图书馆



S0017433

内 容 提 要

生物无机化学是生物学和无机化学之间的新兴边缘学科，生命科学的重要组成部分。作为入门书，重点介绍生物大分子蛋白质和核酸的结构以及与金属离子的关系；金属离子与金属蛋白质的结构和功能的关系；通过各种酶的模型化合物这一生物无机化学手段研究生命组成。

生 物 无 机 化 学 入 门

〔日〕中原昭次 山内脩 著

吴炳辅 吴炳昌 译

南开大学出版社出版

（天津八里台南开大学校内）

新华书店天津发行所发行

河北新华印刷一厂印刷

1988年12月第1版 1988年12月第1次印刷

开本：850×1168 1/32 印张：6 插页 2

字数：15万 印数：1—3200

ISBN 7-310-00127-3/Q·4 定价：1.55元

序

在本世纪中叶，分子生物学得到迅速的发展。这就意味着人们在分子水平上探索生命现象具备了可能性和必要性。以前学者们认为物质科学的各个领域和生命现象的研究毫无关系，而现在，他们对于生命的组成全都表示出高度的关心。其原因之一就是生物体作为人类探求知识的对象，它的巧妙的构造和组成非常神秘，因而最令人关注。另一个原因是，科学家们认识到，在解决现代社会产生的环境、资源和能源危机时，生物完全合理和高效率、无浪费的能量利用，是一个最佳的样本。在这样的背景下，大约 10 年前，诞生了生物学（或者说是生物化学）与无机化学的边缘学科——生物无机化学 (Bioinorganic Chemistry)。有关有金属离子参与的生物体体系以及模型化合物的结构与功能的研究，现今在世界各国都很活跃，这个领域的专门著作的陆续出版，就是这种情形的反映。但是，生物无机化学包括的范围实在是太广泛了，而且需要各种专业知识，所以初学者渴望有一部适用的入门书。为此，我们应化学同人出版社之约，不揣才薄学浅，决定写出这本化学专论丛书之一的《生物无机化学入门》。

但是，和所有新的领域一样，在这类入门书中，对内容的取舍选择以及编排顺序，极少先例。这使作者在编写过程中煞费苦心。我们首先设想，本书的读者大多数是攻读从大学高年级到硕士研究生课程的学生，他们在化学的各个领域中已经具备了一定的基础。如果他们希望理解生物无机化学领域中更高水平的研究进

展，这本书可以作为这方面的入门书。

本书分为三章。在第一章绪论里，论述生物大分子，特别是在生物无机化学领域里十分重要的蛋白质、核酸的结构，以及它们与金属离子相结合等这样一些基础问题。此外，对什么是生物无机化学也勾划出一个轮廓，这是本章的目的。在第二章里，对于各种金属酶，更为广泛地说是金属蛋白质的结构和功能做了详细的阐述，以充分阐明了的具体事例加以论述，同时，以金属离子在生物体内的存在形态、运输、贮藏，以及膜通透等作为重点内容。在某种意义上讲，生物无机化学入门，就是以金属离子所起的主要作用为讨论目标的。第三章就是打算从无机化学和络合物化学入手，说明生命的组成，也就是从生物无机化学特有的方法论出发，介绍各种酶的模式，并注意提供实例，以加深对生命组成的理解。

生物无机化学是多种学科间的边缘领域，涉及很多有关学科的知识，若是划分得过细，就只能掌握狭窄的一小部分，而很难做到全面理解，这样往往会使人困难而退。对于研究者，特别是对年轻有为的学生们，本书若能有助于正确理解生物无机化学的本质，实为作者之幸。在阅读本书时，如果读者对于基础知识稍感不足，建议可先看一些有关生物化学和络合物化学的书籍以资补充。此外，需要略加说明之处，尽可能在正文中或是注解中加以简略的说明。

本书不是迅速发展中的生物无机化学的最新研究成果汇编，而是自始至终以入门解说为目标的。本书内容的选择和编排的顺序也未必正确。由于作者的学识水平所限，可能遗漏最新的重要文献。凡此种种，都希望读者不吝指正，以便将来在适当的时候订正修改。

再者，本书尽可能采用SI单位（国际单位制单位），但并不绝对，原因之一就是要使读者有本乡本土的亲切感。

本书出版，承化学同人出版社诸君，特别是西口守、山本真希两位先生大力协助，特此致谢。

中原昭次

山内 脩

1978.12.

1. 概论	(1)
1.1 维持生命的分子	(2)
1.2 蛋白质和金属离子	(4)
1.3 金属离子与配位	(5)
1.4 金属离子的生物作用	(6)
1.5 金属离子的生物作用	(8)
1.6 金属离子的生物作用	(8)
1.7 金属离子的生物作用	(9)
1.8 金属离子与酶的作用	(10)
1.9 核酸及其有关化合物和金属离子	(14)
1.10 核酸及其有关化合物的结构	(14)
1.11 碱基、核苷、核苷酸和金属离子	(17)
1.12 DNA 和金属离子的相互作用	(20)
1.13 金属离子是生命所必需的	(24)
2. 生物体系的结构和功能	(26)
2.1 金属离子在血液中的存在形式和分布	(28)
2.1.1 金属离子在血液中的存在形式	(31)
2.1.2 金属离子在血液中的分布	(31)
2.1.3 金属离子在血液中的分布	(31)
2.1.4 金属离子在血液中的分布	(31)
2.1.5 金属离子在血液中的分布	(31)
2.2 酶的结构和功能	(40)
2.2.1 酶的结构和功能	(41)

第一、在科学技术和生产力的推动下，人们开始从自然界中，取出各种

植物和动物，把它们放在人工控制的环境中，让它们生长，以及它们产
生后代。这就是人工驯化。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

的一个重要标志。驯化是人类文明的一个重要标志，也是人类文明

目 录

1. 结论	(1)
1.1 维持生命的基本分子	(2)
1.2 蛋白质和金属离子	(4)
蛋白质的一级结构	(5)
蛋白质的二级结构	(6)
蛋白质的三级结构	(8)
蛋白质的四级结构	(8)
蛋白质的变性	(9)
蛋白质和金属离子的相互作用	(10)
1.3 核酸及其有关化合物和金属离子	(14)
核酸及其有关化合物的结构	(14)
碱基、核苷、核苷酸的金属络合物	(17)
DNA 和各种金属离子的相互作用	(20)
1.4 哪些元素是生物所必需的	(24)
2. 生物体系的结构和机能	(28)
2.1 金属离子在血浆中的存在形式和动态	(28)
在配位体间金属离子的接收	(31)
络合物在水溶液中的平衡	(33)
用电子计算机模拟血浆中的平衡	(34)
金属离子在生物体中的运输和贮存形态	(36)
2.2 锌酶的结构和功能	(40)
羧肽酶 A 与羧肽酶 B	(41)

嗜热菌蛋白酶	(46)
碳酸酐酶	(48)
非共价键作用在生物反应中的重要性	
性、选择性之间的关系	(53)
2.3 各种载氧体的结构和功能	(56)
血红蛋白和肌红蛋白的结构	(58)
血红蛋白和肌红蛋白的氧平衡机能	(60)
与氧结合导致的血红素结构变化及其影响	(62)
血红素铁与氧的结合	(63)
血蓝蛋白	(64)
蚯蚓血红蛋白	(67)
血钒蛋白	(69)
2.4 铁蛋白与铜蛋白的结构和功能	(70)
生物体的能量代谢	(70)
细胞色素	(74)
过氧化氢酶	(81)
红氧还蛋白和铁氧还蛋白	(82)
质体蓝素	(89)
超氧化物歧化酶	(90)
2.5 金属离子的膜通透	(98)
膜内外离子的分布和膜的结构	(98)
$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 泵	(101)
离子载体	(103)
3. 生物无机化学关于生命组成的研究	(110)
3.1 生物无机化学的研究方法	(110)
利用模型化合物的研究方法	(111)
处理生物物质的着眼点	(112)
3.2 血红蛋白和肌红蛋白的模型化合物	(114)

金属络合物与 O_2 的相互作用	(114)
Wang 血红蛋白模型	(118)
围栅卟啉	(122)
血蓝蛋白的模型化合物	(126)
3.3 固氮酶及其模型化合物	(130)
固氮酶	(130)
以氮分子配位的金属络合物	(133)
Schrauzer 的固氮酶模型化合物	(135)
3.4 维生素 B_{12} 辅酶及其模型化合物	(138)
维生素 B_{12} 辅酶	(139)
维生素 B_{12} 辅酶模型化合物	(142)
3.5 铜蓝蛋白的模型化合物	(145)
由铜蓝蛋白的性质推断结构	(146)
模型络合物的研究	(148)
3.6 生物化学中引人注目的络合物及其反应	(152)
肽的选择性断裂	(152)
非酶性氨基转移反应	(159)
利用金属络合物使 ATP 水解	(162)
氨基酸金属络合物的立体选择性	(167)
Cu(II)-肽络合物	(174)
参考书目	(179)
译者补充参考书目	(181)

绪 论

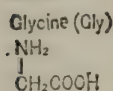
从高等的动植物到微生物，它们的化学组成以及代谢途径基本相同。以这种共同性为研究对象的生物化学称为普通生物化学。生物无机化学，则是以无机化学的知识为基础，用无机化学的方法来研究生物化学的一门科学。从前人们一直相信只有生物体才能形成有机化合物，认为只有有机化学与生命现象之间才存在着深刻的关系。但是在现代，则认为这种观点根本不恰当。构成生物体的主要成分是水 and 有机化合物，但是，各种无机成分，特别是金属离子的作用，对生命活动具有不可缺少的重要作用。以金属离子为中心，进而考察它与周围环境的相互作用，本质上仍是络合物化学。因此，简单地说，生物无机化学就是与生物体有关的无机化学。

从事物质科学研究的化学工作者，对于生物体可能很不熟悉。因此，这里必须提供一些预备知识，有必要对最基本的重要物质作一些介绍。在绪论里，将具有生物活性的蛋白质以及核酸等生物高分子物质的结构，以及它们和各种金属离子的相互作用，进行一般性的讨论。首先，简单介绍一下生物高分子物质的一些基本构成。

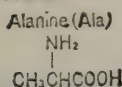
1.1 维持生命的基本分子

与生物体有关的化合物，种类繁多。但是，曾有人从极小的

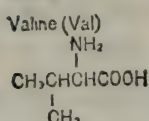
甘氨酸



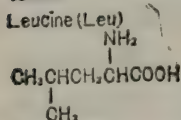
丙氨酸



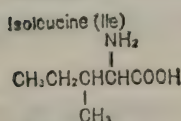
缬氨酸



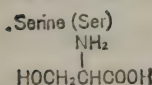
亮氨酸



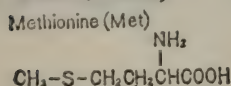
异亮氨酸



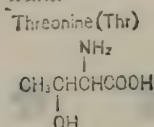
丝氨酸



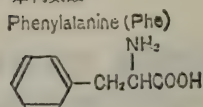
蛋氨酸 (甲硫氨酸)



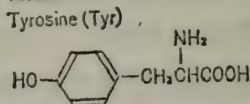
苏氨酸



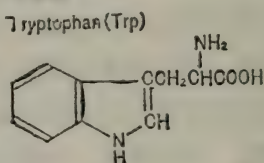
苯丙氨酸



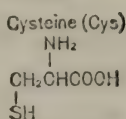
酪氨酸



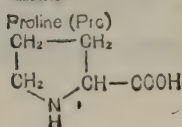
色氨酸



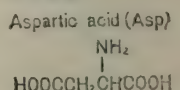
半胱氨酸



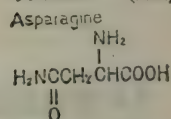
脯氨酸



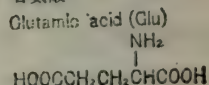
天冬氨酸



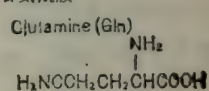
天冬酰胺 (Asn)



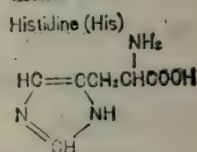
谷氨酸



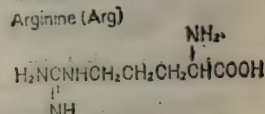
谷氨酰胺



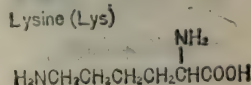
组氨酸



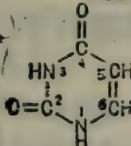
精氨酸



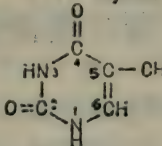
赖氨酸



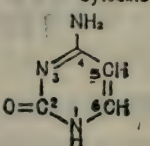
尿嘧啶 Uracil



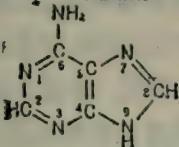
胸腺嘧啶 Thymine



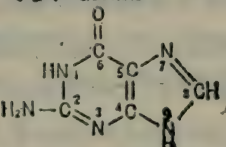
胞嘧啶 Cytosine



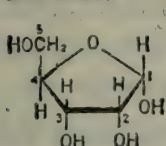
腺嘌呤 Adenine



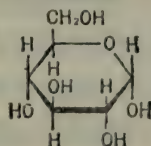
鸟嘌呤 Guanine



α -D-核糖
 α -D-Ribose

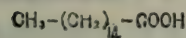


α -D-葡萄糖
 α -D-Glucose



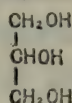
软脂酸

Palmitic acid



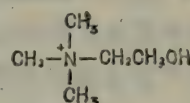
甘油

Glycerol



胆碱

Choline



微生物枝原体 (Mycoplasma) 的化学组成推断, 设想地球上最初形成的细胞仅仅是由 30 种基本分子构成的。其中, 有构成蛋白质的 20 种氨基酸, 以及构成核酸的“材料”——5 种碱基和 α -D-核糖, 还有作为多糖类“材料”的 α -D-葡萄糖及与类脂化合物有关的软脂酸、甘油、胆碱等, 共 30 种。正如 26 个字母组成无数的英语词汇, 这些词汇经过各式各样的排列组成文句一样, 上述 30 种基本分子构成各式各样的高分子, 并进行各种生物反应。这些维持生命的基本分子, 对以下的讨论非常重要, 请务必熟记其化学结构。

1.2 蛋白质和金属离子

蛋白质 (protein) 是细胞内最多的有机高分子化合物, 是由前述氨基酸通过肽键形成的多肽链。由于氨基酸的排列顺序千变万化, 就构成了无数种蛋白质。蛋白质有两类: 水解时只生成氨基酸的简单蛋白, 和水解后除氨基酸外还生成其他有机成分或无机成分的结合蛋白 (conjugated protein), 其中非氨基酸的部分称为辅基 (prosthetic group)。根据辅基的不同, 结合蛋白还可以分为核蛋白 (核酸与蛋白质相结合), 脂蛋白 (类脂化合物与蛋白质的复合物), 磷蛋白 (含有磷酸的复合蛋白质), 金属蛋白 (与金属离子结合的蛋白质), 以及糖蛋白 (含有糖类的蛋白质), 等等。

蛋白质是高分子物质, 分子量可达数万、数十万或更大, 但分子量较小的蛋白质也为数不少。核糖核酸酶 (RNase) 的分子量为 14000, 细胞色素 c 为 12400, 肌红蛋白为 17000。它们由大约 100~150 个氨基酸构成。从牛身上得到的胰岛素 (insulin) 更小, 分子量只有约 5700, 由 17 种共 51 个氨基酸构成。F. Sanger 确定了胰岛素的化学结构, 如图 1-1。这是最早搞清楚氨基酸排列顺序的一种蛋白质。由图 1-1 可以了解, 它由 A、B 两条肽链构成, A 链的 N 末端是甘氨酸 C 末端是天冬酰胺; B 链的 N

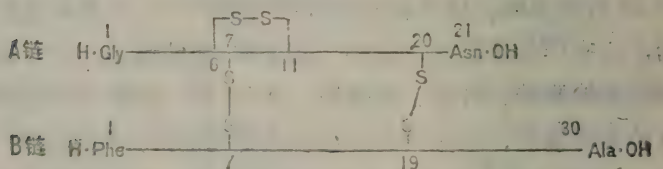


图 1-1 牛胰岛素的化学结构骨架

末端是苯丙氨酸, C 末端是丙氨酸。A、B 两条链由 S—S 键在两

处交联，在A链上还有一个链内的S—S键*。

按照蛋白质的立体形状来分类，有纤维状蛋白 (fibrous protein) 和球状蛋白 (globular protein) 两种。纤维状蛋白是高等动物结缔组织的基本结构单元，例如在连接筋与骨骼的肌键中所含的胶原蛋白以及毛发中的角蛋白，都是纤维状蛋白。它们不溶于水或盐的稀溶液，有强韧的力学性质。球蛋白是由多肽链致密折叠而呈球形，可溶于水，容易扩散。迄今已知约 1000 种酶，大多属于球状蛋白。具有免疫能力的抗体，以及前面提到的胰岛素等激素、血红蛋白、血清蛋白等，也都是球状蛋白。

蛋白质的一级结构

如前所述，蛋白质是由许多氨基酸残基以肽键连接而形成的高分子链，它比小分子化合物复杂得多。对化学家来说，氨基酸的连接顺序是一个最重要的问题。与肽链在空间怎样延伸等问题相区别，这种氨基酸的连接顺序称为一级结构 (primary structure)。一级结构由肽键来维系，肽键是共价键。为了确定一级结构，生物化学家们曾设计了各种方法。弄清蛋白质的一级结构对理解蛋白质的性质很重要，这方面已有许多生物化学专著论述，在此不赘述。以下主要讨论肽键的结构化学。肽键结构可参见图 1-2。据 Pauling 所述，肽键部分有 50% 是双键。现已知其 C—N 键长为 0.132nm，和 C—N 单键 (0.147nm，例如胺) 相比，更接近于双键的键长 ($>C=N$ —为 0.130nm，如脒)。此外，—CO—NH—的 C 与 N 共同形成 sp^2 杂化中心，—CO—NH—全在一个平面内。但—CHR—的两个键，单键成分比例很大，可以自由地旋转。

* 肽链的氨基末端、羧基末端分别简称为 N 末端、C 末端。例如 A 链的 H·Gly 为 N 末端，ASn·OH 为 C 末端。S—S 键则是两个肽链的半胱氨酸的巯基氧化成胱氨酸的形式。

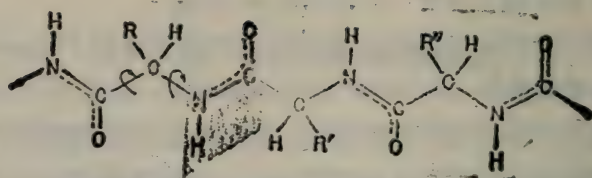


图 1-2 肽键结构示意图

蛋白质的二级结构

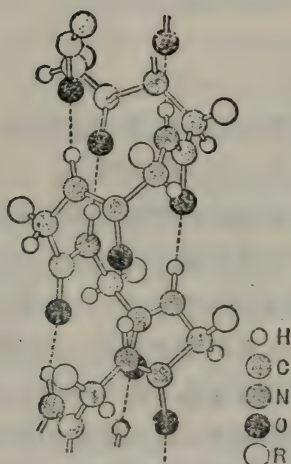


图 1-3 右旋 α -螺旋结构

以上述一级结构的特点为基础，为了加强整个分子的稳定性，多肽链的结构呈现几种形式，这就是二级结构(secondary structure)。图 1-3 所示是其中的一种 α -螺旋结构 (α -helix)，它是右旋的 α -螺旋，在肽链内有许多 $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$ 氢键，靠这种氢键就能保持螺旋结构。

也有与右旋相反的左旋的 α -螺旋结构。Pauling 曾指出，一般以 L-氨基酸为母体的肽链，右旋的 α -螺旋比左旋的 α -螺旋

稍稳定一些。这种螺旋每圈包含 3.6 个氨基酸，并沿主轴方向伸长 0.54nm。除了 α -螺旋结构，还有 β -结构或称为 β -折叠 (β -pleated sheet) 的二级结构。在这个结构中，多肽链呈锯齿状 (zigzag)，见图 1-4a，氨基及羧基与肽链接近成直角，在相邻的肽链之间形成链间氢键 (图 1-4b)。因此，多肽链有许多个呈图 1-4c 所示的折皱状，所以叫做折叠结构 (pleated sheet)。由于肽链伸展的方向不同， β -结构又分为平行型和反平行型。平行型的

实例有 β -角蛋白，反平行型的例子是绢的丝蛋白。肽链的伸展

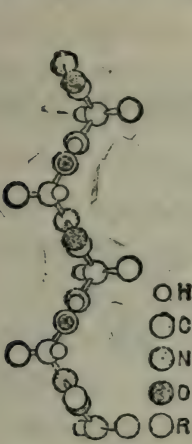


图 1-4(a) 肽链的一个 β -结构单元

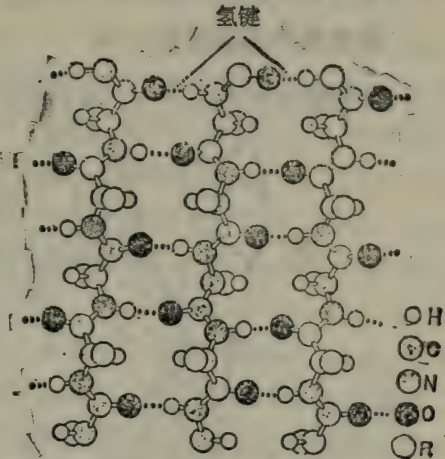


图 1-4(b) β -结构的链间氢键

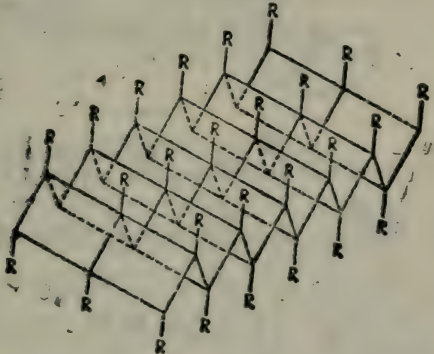


图 1-4(c) β -折叠结构

也有不按 α -形式或 β -形式，而是一种不规则的结构。图 1-5 中每个螺旋结构之间的弯曲部分，就相当于这种不规则结构，我们也称它为无规线圈 (random coil)。正确的叫法应为不规则结构 (unordered structure)。在二级结构中，除此以外，已经弄清楚的其他规则的型式，但此处暂且不谈。由 α -螺旋和 β -折叠

来判断，肽链内或肽链间的氢键对维持二级结构有很大的作用。

蛋白质的三级结构

氨基酸的排列顺序（一级结构）和 α -螺旋结构（二级结构）

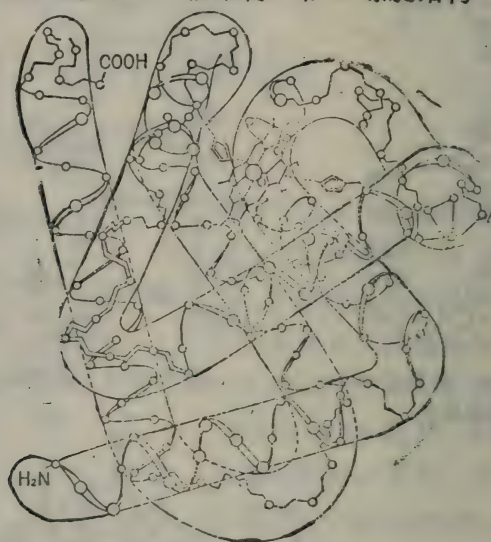


图 1-5 肌红蛋白的结构
(O表示氨基酸残基 α 碳的位置)

已如上述，现在进一步说明这种肽链怎样折叠成球状。从肌红蛋白的结构（图1-5）可见，螺旋状的部分共有8段，由此压紧折叠起来。这种折叠形式称为**三级结构** (tertiary structure)。三级结构以S-S键和氢键为主，配合着非共价性的离子键、疏水键，或是由于路易斯酸碱的引力以及 π - π 键、范德华力结合等各种强弱不等的相互作用来支撑（参看2.2）。二级结构和三级结构，都是多肽的空间构象。

蛋白质的四级结构

三级结构确定了多肽链特有的空间构型，下一步就要了解蛋

白质本身的特性，这种特性必须在其保持天然结构时才能表现出来，在后文还要详述（参见 2.3）。肌红蛋白或血红蛋白都能够结合氧分子，但两者的氧解离曲线形状完全不同*。肌红蛋白是单体，而血红蛋白则是四聚体（ $\alpha_2\beta_2$ ，表示大小不同的 2 种单位，各有 2 个**，共计 4 个，集成四面体），在各个肽链之间形成了独特的相互关系。这样由 n 个分子的蛋白质靠拢、聚集，构成更大的蛋白质。这种结构称为四级结构（quaternary structure）。

在具有生物活性的球蛋白里，疏水性（hydrophobic）的氨基酸侧链在三级结构的内部，亲水性（hydrophilic）侧链的极性基则暴露在三级结构的表面，因而，蛋白质在水中呈可溶性，但是，偶尔在表面有较多的疏水性侧链存在时，这样的蛋白质疏水性基团就相互挨近、靠拢。此外，还有带负电荷的 $-\text{COO}^-$ 基和带正电荷的 $-\text{NH}_3^+$ 基相互作用。疏水键、静电引力和其他非共价键结合，是维持四级结构稳定的重要因素。

蛋白质的变性

蛋白质的一级结构不变，而其二级、三级或四级结构等立体结构发生了变化，由此引起功能的改变，叫做变性（denaturation）。蛋白质的高级结构十分微妙。由于支撑它的力在大多数情形下是微弱的，因此，温度和 pH 的变化，以及加入某些试剂等都会引起变性。变性就是指它的溶解度减小，酶蛋白的活性降低等。如图 1-6 所示，蛋白质原先的立体结构展开，随即发生了各种变化。

对于蛋白质的变性，以前都认为这是完全不可逆的变化。近些年来，发现了在试管内变性蛋白质可以恢复原状的例子。如果

* 血红蛋白的曲线呈 S 形，而肌红蛋白的曲线为双曲线——译注

** 即 2 个 α -肽链和 2 个 β -肽链——译注

大多数的蛋白质变性以后也可复原(或再生)(renaturation),那么即使不能简单地“蛋白质的一级结构一旦确定,其二、三、四级结构也随之确定”,我们也会发现氨基酸的排列顺序具有决定性的意义^{*}。各种生物活性蛋白质是由仅20种氨基酸构成的,这

20种氨基酸若是单独存在时,并没有任何活性,活性仅当氨基酸以一定顺序排列以后才显现出来。



■ 1-6 蛋白质的变性和复原

蛋白质和金属离子的相互作用

从肽链的结构可以看出,除了两端的氨基、羧基之外,蛋白质还具有无数的肽键和各种氨基酸残基的支链等供电子基团。就金属离子而言,主族金属离子和过渡金属离子对配位体的亲和力不同,键的性质也就不同。因此,要想对蛋白质和金属离子的相互作用,作出令人满意的全面讨论,尚

不可能。为了给以后各章的学习打下基础,在此先做一般的讨论。

Na^+ 、 K^+ 等碱金属离子,如在无机化学中所熟知的那样,倾向于生成典型的离子键。因此,它们靠近蛋白质结构中带负电荷的羧基等基团,而形成离子对。这就使得蛋白质在高级结构中,比较靠近的负电荷之间的排斥作用得到缓和,有利于蛋白质从整体上来说的稳定化。因此,一般用蒸馏水处理蛋白质时,往往在蛋白质表面发生变性。用食盐水来处理,可以防止变性。这

* 多肽链含有促使其恢复三级结构所必需的信息,即肽键中氨基酸的排列顺序决定了三级结构——译者

一事实可以用上述的离子对形成的概念来解释。

Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 在本质上为离子性结合较强，但是与 Na^+ 和 K^+ 相比，其比电荷 e/r (e : 电荷; r : 离子半径) 较大，含有一定程度的共价键性。和 Na^+ 、 K^+ 一样， Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 也属于HSAB规则*中的硬酸，易与硬碱如羧基、磷酸基或羟基等基团中的氧原子相互作用。

Zn是过渡金属， $Zn(II)$ 为 $3d^{10}$ 结构，也与主族金属离子的性质相同。但是比起上述碱金属和碱土金属离子来，它是软的路易斯酸。配位体即路易斯碱，例如咪唑氮，易与稍软一些的供体原子配位。一般来说， $Zn(II)$ 络合物多为四面体结构，这种四面体也往往是变形较大的。就配位场而言，若是变形较大时， $Zn(II)$ 与其他过渡金属离子不难形成络合物，可以认为 d^{10} 结构的LFSE（配位体场稳定化能）接近于零。蛋白质内部的活性部位（active site）能容纳金属离子，金属离子周围的配位体很多是相当对称的。从以上事实来看，包围在中间的 $Zn(II)$ 好像是“果核”。 $Zn(II)$ 就这样居于金属酶的活性部位，发挥路易斯酸的特性，在水解酶的反应中往往起着主要作用。

Fe、Co、Cu、Mo是能形成稳定络合物的过渡金属群，它们可以直接与蛋白质的侧链，或通过辅基与蛋白质联接，形成强有力的共价键结合。因此，使供体基团极化的性质也很显著。然而，这些金属的氧化状态很容易相互变换，往往参与由此特性而发生的电子移动过程，起氧化还原反应的中心作用。

金属存在于金属酶或金属蛋白质的情形，见表 1-1。

* HSAB规则即软硬酸规则(Hard and Soft Acids and Base rule)。金属离子为路易斯酸，配位体为路易斯碱，分为二类：1. 变形性小的，较难极化的，是硬的酸、碱；2. 变形性大的，较易极化的，是软的酸、碱。硬的酸亲硬的碱，软的酸亲软的碱，这样的结合稳定。R. G. Pearson, *J. Chem. Educ.*, 45, 581 (1968); J. E. Huheey, *Inorganic chemistry*, Harper & Row (1972)。

表 1-1 典型金属蛋白质及其机能

金属	蛋白质名称	生物学机能
Mg	己糖激酶 (hexokinase)	己糖 6 位磷酸化反应的催化剂 $\text{己糖} + \text{ATP} \rightarrow \text{己糖-6-磷酸} + \text{ADP}$
Ca	脂(肪)酶 (lipase)	使中性脂肪水解, 是脂肪酸和甘油反应的 可逆催化剂
Mn	精氨酸酶 (arginase)	将 L-Arg 水解为 L-Orn 和 尿素的反应的 催化剂
	丙酮酸羧化酶 (pyruvat carboxylase)	$\text{丙酮酸} + \text{CO}_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{草酰乙酸} + \text{ADP} + \text{Pi}$ 反应的 催 化 剂 (与乙酰 CoA 的活 性有关)
Fe	血红蛋白 (hemoglobin)	存在于血液里参与组织氧的运输
	细胞色素 (cytochlome)	通过 Fe(II)、Fe(III) 的可逆变化, 进行 电子传递
	过氧化氢酶 (catalase)	$2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ 反应的催化剂
	醛氧化酶 (aldehyde oxidase)	$\text{R-CHO} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{R-COOH} + \text{H}_2\text{O}_2$ 反应的催化剂
	铁氧化还原蛋白 (ferredoxin)	光合成体系的叶绿素受到光还原 构成铁氧化还原蛋白 - NADP^+ 还原 酶, 作用是使 NADP^+ 还原 是固氮菌形成固氮酶的 电子 供 体, 与 N_2 的还原反应有关
	琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydro- genase)	琥珀酸脱氢为延胡索酸反应的催化剂

续表1-1

金属	蛋白质名称	生物学机能
Co	核(糖核)苷酸还原酶 (ribonucleotide reductase)	参与 DNA 的生物合成
	谷氨酸转氨酶 (glutamate mutase)	转变谷氨酸功能基为 β -甲基天冬酰胺反应的催化剂
Cu	血蓝蛋白 (hemocyanin)	存在于软体动物、节肢动物血淋巴中的氧运输体
	细胞色素C氧化酶 (cytochrome c oxidase)	细胞呼吸时在电子传递系统(呼吸链)的末端工作, 将呼吸基质传递的电子直接交给 O_2
	酪氨酸酶(单酚氧化酶) (tyrosinase 或 monophenol oxidase)	参与分子 O_2 氧化L-Tyr 生成黑素(melanin)的反应
	质体蓝素 (Plastocyanin)	在光合成的电子传递中, 光化学系统 I 和 II 之间电子传递系统的一员
Zn	血浆铜蓝蛋白 (ceruloplasmin)	运输血液中的 Cu, 氧化 Fe(II)
	碳酸酐酶 (carbonic anhydrase)	$H_2CO_3 \rightleftharpoons H_2O + CO_2$ 反应的催化剂, 调节液体的 pH 值
	羧肽酶 (carboxypeptidase)	将多肽链的 C 末端肽链有选择地切断
	乙醇脱氢酶 (alcohol dehydrogenase)	乙醇脱氢生成醛的反应的可逆催化剂

金属	蛋白质名称	生物学机能
Mo	黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase)	氧化次黄嘌呤 (hypoxanthine) 为黄嘌呤 (xanthine), 并氧化尿酸
	硝酸盐还原酶 (nitrate reductase)	还原硝酸盐为亚硝酸盐反应的催化
	固氮酶 (Nitrogenase)	与铁-硫蛋白*共同作用, 将分子态 N_2 还原成氨反应的催化

• 固氮酶由两种蛋白质组成, 均含 Fe-S。——译者

1.3 核酸及其有关化合物和金属离子

核酸是由嘌呤和嘧啶碱基、糖以及磷酸组成的有机高分子化合物。由于这种酸性物质富含于细胞核内, 因此被命名为**核酸** (nucleic acid)。它是生物遗传连续性以及性状表达的基础, 与蛋白质一起, 都是形成生命的最基本的重要物质。在讨论其结构前, 先介绍一下构成它的基本分子材料。

核酸及其有关化合物的结构

构成核酸的碱基, 有**脱氧核糖核酸** (DNA, deoxyribonucleic acid) 中的**腺嘌呤** (adenine)、**鸟嘌呤** (guanine)、**胞嘧啶** (cytosine) 和**胸腺嘧啶** (thymine), 以及**核糖核酸** (RNA, ribonucleic acid) 中的**腺嘌呤**、**鸟嘌呤**、**胞嘧啶**和**尿嘧啶** (uracil)。其结构及组成它的原子的编号, 见本书第2页。腺嘌呤和鸟嘌呤 9 位的 N (以后以 N(9) 来表示), 胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶的 N(1), 与核糖 (或脱氧核糖) 相结合, 构成**核苷** (nucleoside)。核苷再与磷酸结合成酯, 就是通常说的**核苷酸** (nucle-

otide)。碱基为腺嘌呤时的核苷酸结构如图 1-7 所示。

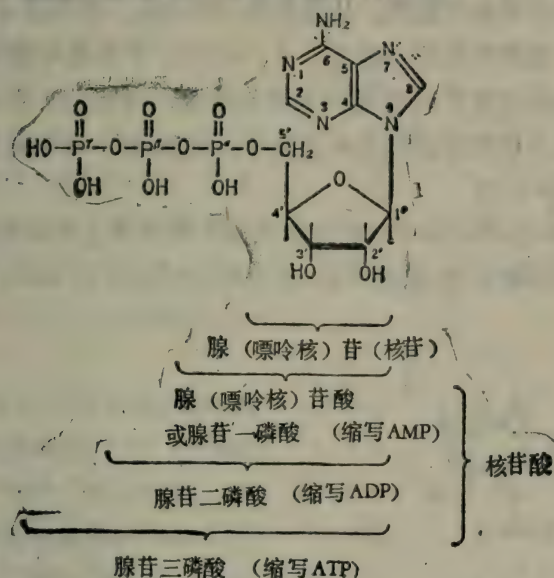


图 1-7 核苷与核苷酸的结构

最近，核苷酸分子的立体结构已经清楚。在能量代谢中很重要的 ATP 的分子结构也已经 X 射线分析确定（如图 1-8 所示）。实际上，从结晶学的角度来看，独立存在着两种 ATP 分子，图 1-8 所示只是其中之一。由图上看，腺嘌呤碱基和核糖部分几乎是垂直的，整个磷酸部分是十分曲折的。

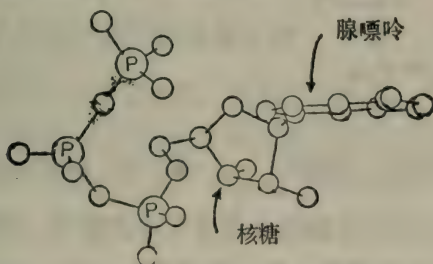


图 1-8 ATP 的分子结构

核酸中，糖部分 C(5') 的羟基，与相邻核苷酸的 C(3') 羟基之间形成磷酸二酯键，从而形成一条长链。表示这个链的一级结构时，左侧的核苷（碱基以 A、G、C、T 等缩写表示）通过符号 p 表示核糖的 5' 羟基与磷酸相结合，习惯上在右侧核苷的 3' 羟基上与磷酸结合也用 p 来表示。因此，图 1-9 的结构也可写成 $\cdots A_p G_p C_p \cdots$ 。

Watson—Crick 的 DNA 模式图，是两条上述磷酸二酯键连接的多核苷酸长链，彼此互补，以双螺旋结构形成 DNA 分子（图 1-10）。

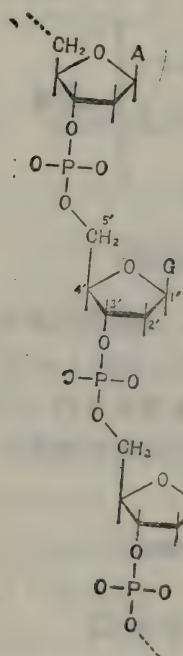


图 1-9 DNA 的一级结构

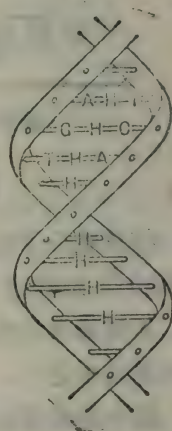


图 1-10 DNA 的双螺旋结构

由图 1-11 可以看出两个长链互补的原因，腺嘌呤 (A) 和胸腺嘧啶 (T)、胞嘧啶 (C) 和鸟嘌呤 (G) 在结构上的配置是

很巧妙的，它们分别以 2 个或 3 个氢键相连接。

双螺旋的直径约 1.8nm，螺旋每旋转 36°，就沿轴方向伸长 0.336nm。因此，每 10 个核苷酸绕轴旋转一周，每个螺距为 3.36nm。DNA 的螺旋伸展得很长。大肠杆菌甚至长达 1mm 以上，成为巨型高分子体。

DNA 的脱氧核糖以核糖代替，胸腺嘧啶 (T) 以尿嘧啶 (U) 代替，即为 RNA。因此 DNA 碱基对中的 A=T 就由 A=U 代替，在 RNA 结构中，有碱基对部分，也有未配成碱基对的部分。从生化机能上区分，有核糖体 RNA (分子量 50~1200 万)，信使 RNA (分子量 5~150 万) 和转移 RNA (分子量 3 万)，比起 DNA 来，分子量都小。RNA 的生物化学在生命的组成上极为重要，但是因为与下面的讨论没有直接联系，在这里不多介绍。

碱基、核苷、核苷酸的金属络合物

构成核酸的基本材料是碱基、糖和磷酸酯等。在这些结构里，含有许多个供体原子。它们的金属络合物目前大多数都已能合成，其结构也以各种方法获得了解。但没有充裕的时间对这么多的络合物逐一细致观察，只能由 X 射线结构分析的方法，取得一些可靠的例证。图 1-12, 1-13, 1-15 列举出几个有代表性的分子结构。首先看一下碱基的代表腺嘌呤的 Cu(II) 络合物 (图 1-12)。

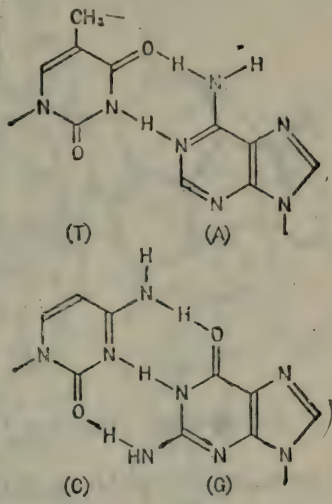


图 1-11 A=T、C≡G 由氢键形成碱基对

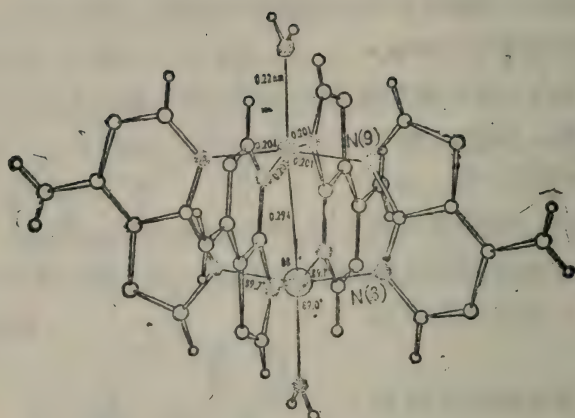


图 1-12 $[\text{Cu}_2(\text{Ade}^-)_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ 的分子结构

这个络合物中腺嘌呤的 N(9) 脱质子后的阴离子 (用 Ade^- 表示), 恰好与醋酸铜 (II) $[\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO}^-)_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ 中的醋酸根 CH_3COO^- 相同, 两个 $\text{Cu}(\text{II})$ 横跨着, 由 N(9) 和 N(3) 来配

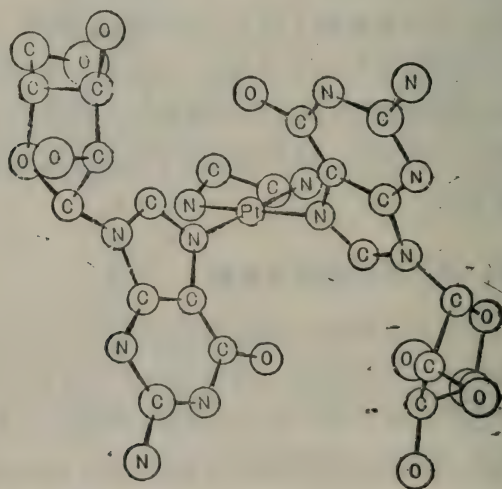


图 1-13 铂(II) (鸟嘌呤核苷)₂络合物的分子结构

位。一个 Cu(II) 的平面内有 4 个供体原子，在 $\text{N}(3)$ 及 $\text{N}(9)$ 上各有两个，在平面上下的 H_2O 分子与相邻的 Cu(II) 以极小的间距排列着。醋酸铜 (II) 的 Cu—Cu 间距非常短，为 0.264nm ，在 Ade^- 络合物内为 0.295nm 稍长*一些。

另一核苷络合物的例子是铂 (II) 的鸟 (嘌呤核) 苷络合物，如图 1-13 所示。顺式 $[\text{Pt(II)}\text{X}_2(\text{NH}_3)_2]$ 型 (X : Cl^- 等易从配位处离开的配位体) 的络合物显示有抗癌作用，其原因是 DNA 中的鸟嘌呤碱基和铂 (II) 的相互作用。从模式研究的意义上来看，它是值得注意的络合物。在结构上，有的 Pt(II) 络合物是平面四配位型的，两个位置是乙二胺的螯合配位，其余的两个位置是 2 分子鸟 (嘌呤核) 苷在 $\text{N}(7)$ 上的配位。从图 1-13 中还看不清楚，可再看其结晶结构 (图 1-14)。其中鸟 (嘌呤核) 苷与 Pt(II) 通过 $\text{N}(7)$ 单配位，其 $\text{O}(6)$ 与相邻近的 Pt(II) 上配位的乙二胺的氮原子之间有分子间氢键连接。这种由氢键架桥的铂 (II) (鸟苷)₂ 络合物是在一级结构上发展了的结构。从这种 Pt(II) 络合物的分子及结晶结构上看，DNA 若是直接和 Pt(II) 络合物连接，尽管其相互作用的性质是危险的，但或许对我们还是有些启发的！

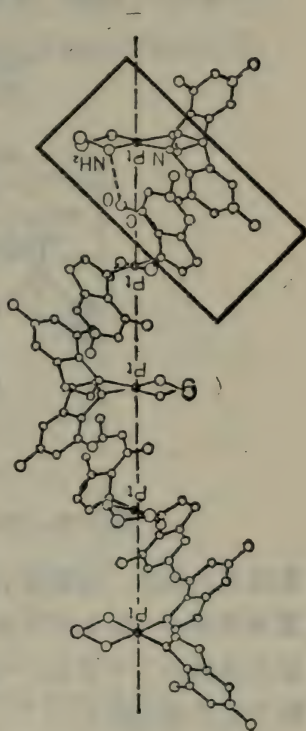


图 1-14 铂(II) (鸟苷)₂ 结晶结构的一部分

* 原文为“相当长”，疑误。——译者

图 1-15 是肌苷酸 (IMP) 的 Co(II) 络合物的结构示意图。肌苷的碱基是次黄嘌呤 (即鸟嘌呤中不含两个 NH_2 单元)。因此, IMP 与 AMP 同是一种核苷。从图上很容易判断, Co(II) 是六

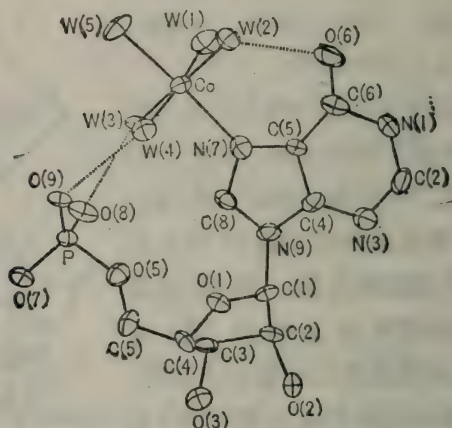


图 1-15 $[\text{Co(II) IMP (H}_2\text{O)}_5]$ 的分子结构

配位正八面体, 直接与 IMP 的 N(7) 相结合。剩下的配位体位置全是 H_2O (图中标示为 W 的)。配位水分子与 IMP 的 O(6) 以及磷酸的 2 个 O 原子*之间, 形成所谓分子内氢键, 看来这有利于络合物的稳定。

DNA 和各种金属离子的相互作用

现在来考察一下构成 DNA 等核酸的小材料分子与各种金属离子形成的络合物的结构。各种金属离子对于 DNA 表现出怎样的相互作用呢? 图 1-16 比较了几种 2 价金属离子对于 DNA 溶解的影响。将 DNA 溶液加热, 由于温度的升高, 碱基对之间的氢键遭破坏, 双螺旋结构随之拆散而变成单链的 DNA (变性

* 即磷酸中的 O(8) 和 O(9) 。——译者

DNA), 这种现象就叫做**熔解**, 这时的温度称为**熔点** (melting temperature) T_m 。通常通过核酸的碱基部分在 260nm 附近的吸收带的强度变化 (变性随着增加) 来测定 T_m 。由图 1-16 看出, 当金属离子浓度较小时, T_m 变化与金属离子的种类没有关系, 甚至极微量的任何金属离子都会使 T_m 上升。

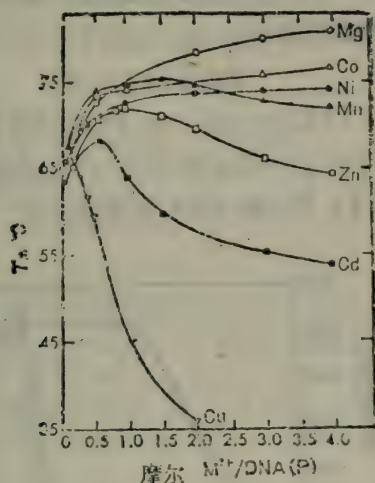
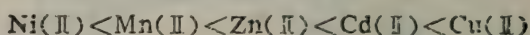


图 1-16 各种 2 价金属离子浓度与 DNA 的 T_m 值关系

[G.L.Eichhorn et al., "Studies on Metal Ions and Nucleic Acids" in "Effects of Metals on Cells, Subcellular Elements, and Macromolecules," Jack Maniott et al., eds. Charles C. Thomas publisher, Springfield (1970), p.88]

金属离子浓度变大时, DNA 的 T_m 却转而下降, 这样的金属离子有 Cu(II)、Cd(II) 等; 也有的金属离子浓度相当大时, T_m 只是连续地略微地上升, 这样的金属离子有 Mg(II)、Co(II)、Ni(II) 等; 还有的, 如 Mn(II) 和 Zn(II), 则处于上述两种之间的中间状态。 T_m 的上升, 可能是金属离子容易和 DNA 的磷酸结合, 使带负电荷的磷酸基之间的相斥作用减弱, 双螺旋结构因此

而变得稳定。在 T_m 下降时，维持 DNA 双螺旋结构的碱基对之间加入了与氢键相竞争的金属离子，DNA 的结构因而变得不稳定。由于金属离子种类不同，即使其相对于 DNA 的浓度很高，也只有易于与磷酸根的氧原子相互作用的 $Mg(II)$ 显示出使 T_m 上升的效果。相反地，对碱基对的 π 性氮原子亲和性极大的 $Cu(II)$ ，使 T_m 下降的作用颇为显著。下列金属离子对碱基的亲性和，按顺序依次增大：



这里，处于序列中间位置的 Zn 的作用最令人感兴趣。图 1-17 表示适量 $Zn(II)$ 存在时 DNA 的溶解状况。

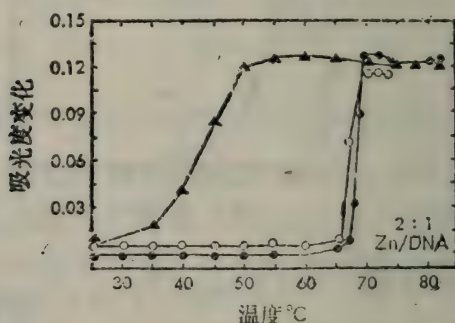


图 1-17 $Zn(II)$ 存在时 DNA 的溶解状况

DNA: $5 \times 10^{-5} \text{mol dm}^{-3}$ (p) DNA ($5 \times 10^{-3} \text{mol dm}^{-3} \text{NaNO}_3$ 中) $Zn(II)$, $10^{-4} \text{mol dm}^{-3} Zn(NO_3)_2$

● 第一次加热

△ 冷却

○ 再加热

若没有 $Zn(II)$ 存在，DNA 在 55°C 仍稳定，半量熔解时的熔点 T_m 为 63°C 。但是，有 $Zn(II)$ 存在时，如图 1-17 那样，DNA 稍显稳定， T_m 上升到 68.5°C 。这里，如果仅仅是由于 $Zn(II)$ 与磷酸根结合，中和了负电荷而使 DNA 的结构稳定，那么，若将完全熔解了的 DNA 迅速冷却，在没有 $Zn(II)$ 存在时，双螺

旋结构就不容易复原，而有 Zn(II) 存在时才复原。图 1-17 中再加热的 DNA 熔解状况和第一次加热时的情形几乎相同，说明 Zn(II) 对熔解的 DNA 结构复原有协同作用，如果没有 Zn(II) 存在，双链就会失掉伙伴而只剩下一条单独的链。当有 Zn(II) 存在时，在高温时 Zn(II) 就会挤到碱基对之间，使两条链保持一定程度的秩序，在冷却时把再次形成碱基对的主导权让给氢键（图 1-18）。因为 Cu(II) 对碱基的亲合力过强，超过了氢键，

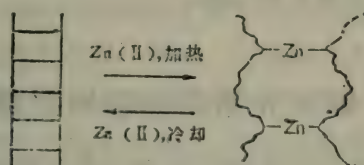


图 1-18 在 DNA 双螺旋结构复原时 Zn(II) 的表现

[G.L.Eichhom et al., "Studies on Metal Ions and Nucleic Acids" in "Effects of Metals on Cells, Subcellular Elements, and Macromolecules" Jack Manlott et al., eds., Charles C. Thomas Publisher, Springfield (1970); p. 86.]

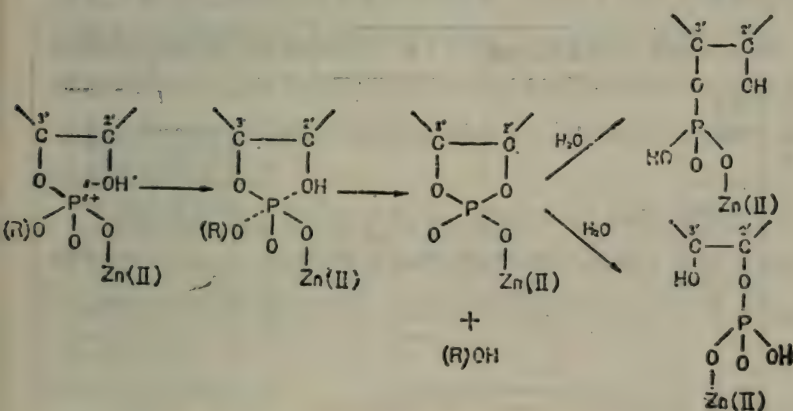


图 1-19 由 Zn(II) 引起的 RNA 的磷酸二酯键的分解机制

则有硬行挤入碱基对之间的可能，一旦在该处的络合物形成，即使冷却以后，主导权也不会转让给氢键了。Zn(II) 对核酸的这种作用，可使 RNA 的磷酸二酯键全部断裂。在 DNA，就没有这种情形，这主要与 RNA 中特有的 2'OH 基有关。分解过程的中间体可能是 2'、3' 环磷酸，估计是图 1-19 那样的结构。在这种情况下，Zn(II) 因带正电荷，使 P 原子的电子密度降低，成为 δ^+ 诱导与 δ^- 性的 2'OH 的氧原子的相互作用，生成环状磷酸，Zn(II) 即与磷酸二酯键的开裂处相连接。

1.4 哪些元素是生物所必需的

在地球上适宜生物活动的环境，包括靠近地球表面的地圈、水圈以及气圈。生物体与这个环境相互依存，利用物质和能量代谢以延续生命活动。因此，在这种环境中所包含的一切元素，是与生物体有关系的因素。但是在这些元素中，作为生物进行正常的生命活动所必需的元素却是有限的。除去微量元素以外，必需元素指那些没有它就会使生物生命活动的延续发生困难、甚至死亡的元素。因

	1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	0
1	H															
2												C	N	O	F*	
3	Na	Mg										Si*	P	S	Cl	
4	K	Ca			V*	Cr*	Mn	Fe	Co		Cu	Zn			Se*	
5						Mo							Sn*		I	
6																
7																

图 1-20 生物必需的元素

此，一般在生物圈 (biosphere) 存在的元素，在元素周期表中一直到 $_{92}\text{U}$ ，几乎都是必需元素 (Po, At, Rn, Fr, Ac, Pa 除外)；若是从存在量来考虑，则必需元素几乎包括到第四周期。

图 1-20 列举了生物体的 24 种必需元素，分为三类。请注意，第五周期以后的必需元素只有 Mo、Sn、I 三种。其中 Mo 在表 1-1 (见 12 页，典型金属蛋白质及其机能) 中已列出，它在黄嘌呤氧化酶和硝酸还原酶的机能方面占有重要地位，也是豆科植物的根瘤菌固氮过程中的重要元素*。Mo 在地壳表面附近的含量很少，与上述现象是相矛盾的。但是据江上的观点，Mo 在海水中的浓度比 6A 族的 Cr 还要大得多**。这一说法有力地支持了地球上的生命起源于海洋的假说。但是，为什么仅限于前四周期的元素，而且将微量元素排除在外？图 1-20 空栏中的元素为什么不是必需元素？更不可理解的是，当地壳形成时在岩石和铝硅酸盐矿物中大量存在的 Al，为什么不是必需元素？当然，Al 可以把琥珀酸脱氢酶活化，也有人认为在石松类 (club-mosses) 以及某些种子植物中 Al 是重要元素，而事实是 Al 在生物圈中广泛存在，却与各种生物没有密切的关系。为什么它的含量很丰富，生物却不去利用它？也许有若干原因。考虑到氢氧化铝在水中的溶解度很小，以及 Al(III) 形成可溶于水的络合物的能力很弱，这也许是生物不需要它的原因。换言之，对于生物来说，Al 的存在量似乎太大了。

下面来考虑必需元素的类别。在图 1-20 中粗方框线里的 11 种元素，是在生物体中存在最丰富的一组。本书 1.1 中所列举的 30 种维持生命的基本分子，它们的组成元素就是 C、H、O、N、

* 固氮菌 (根瘤菌) 中含有固氮酶 (Nitrogenase)，固氮酶含 Mo、Fe 元素。——译者

** Cr 0.2 ppb/升 (Loveridge, 1960); Mo 10 ppb/升 (菅原、国部, 1960) ——译者

S。此外，从在核酸和核苷酸中磷酸的重要性，以及作为骨骼的无机质主要成分来看，P、Ca当然也应包括在这一组内。Ca、Na、K、Mg、Cl等，对于生物体内维持渗透压、调节细胞质的胶体状态、决定膜电位，都发挥着极其重要的作用。

在图 1-20 中没有标志特别记号的 Mn、Fe、Co、Cu、Zn、Mo、I，这七种元素的存在量比上述十一种元素少。但是这些必需元素在生物体中的含量不过是微乎其微的。虽然是微量，但并不意味不重要，它们的确有着不可或缺的重要性。如表 1-1 列举的蛋白质含有的金属离子作用那样，它们对各个重要的生物反应活性来说，都是不可缺少的。在这个表中没有提及 I，但它存在于海藻和海产动物中，也大量存在于脊椎动物的甲状腺激素中。对于所有生物，I 是重要元素。因此，上述七种元素的作用也能使生命的齿轮灵活运转，说它们有重要性并不过份。

图 1-20 中有*号的 V、Cr、Sc、F、Si、Sn 六种元素，比起前述 Mn、Fe 等那一组来，生物的需要是极小，但仍是必要的。除了少数情形，这些元素在生物体中的作用和功能还未弄清楚。但是可以认为，为了生物体的正常成长或保障健康，即使含量很少，也必须提供给生物体。

图 1-20 中，在周期表上与生物必需元素位置相邻近的几种元素，具有致癌作用。在 2A 族 Ca、Mg 上方的 Be，3A 族第五周期的 Y，2B 族 Zn 下方的 Cd，5B 族 N、P 下方的 As 等均具有致癌作用，应严加注意，其致癌原因现在还不清楚，可能是致癌元素取代了生物反应中完成重要机能的部位，而它们是“赝品”，表现出与正常的必需元素相悖的作用。Zn 与 Cd、P 与 As 都有某种程度的近似，但是物理、化学性质却不同，这是上述推断的根据。

即使对于上述的必需元素，如果摄入过量，对于生物本身也并非好事。在生物体中，这些元素的平衡是十分重要的。过渡金

锡离子在高浓度时几乎都显示出毒性作用。特别是在摄取的食物中缺少必要的营养成分时更为显著。例如，患有烟酸等缺乏症的南非班兹族有许多人大量饮用一种“Kaffir beer” 饮料——一种啤酒，0.1 升中含有 4 毫克铁。他们多患有含铁血黄素（hemosiderosis）（参见 2.1）沉积症，肝脏受害。

主 要 参 考 文 献

1. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
2. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
3. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
4. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
5. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
6. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
7. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
8. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
9. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。
10. 王德信等：《微量元素与健康》，人民卫生出版社，1981年。

生物体系的结构和机能

近年来, 由于各种光谱技术、微量分析手段、X射线分析法, 以及计算机技术的广泛应用, 深刻地理解生命现象, 有了可能。然而, 生物体中过渡金属离子的含量极微, 多数是与蛋白质呈牢固的结合状态, 游离的金属离子浓度低到用普通的分析手段测定不出来。因此, 要想解释明白像蛋白质那样巨大的配位体与金属离子的结合形式, 除了依据它的化学反应性能之外, 必须具备由光谱学手段获得的数据资料。此外, 还要有X射线分析的资料。另一方面, 不能与蛋白质结合的微量金属离子与多种小分子配位体形成的是哪一种络合物, 形成的程度如何, 目前已有可能用计算机模拟得到数据后进行推测。

第二章就是用这些最新的分析手段, 对生物体的结构、机能、反应等作综合性的叙述。

2.1 金属离子在血浆中的存在形式和动态

生物体液除了从血液中去掉有形成分后的血浆之外, 还有细胞内液、胃液、胰液, 等等。这些液体由于作用不同, 其组成也就各异。人体各种体液的区别如图 2-1 所示。

将血浆与细胞内液相比较，血浆中 Na^+ 的含量最高，而 K^+ 只是少量；在细胞内液中，关系恰恰相反， K^+ 则占居多数。这种不同表示出细胞膜的离子选择性（参见 2.5）。在胃液和胰液中， H^+ 和 HCO_3^- 两者量的差别最明显，它们的 pH 值也随之不同。血浆的 pH 值为 7.4，除无机离子外，还含有蛋白质等多种物质。人体血浆主成分如表 2-1 所示。每 0.1 升

表 2-1 人体血浆的主要成分

成 分	含 量
蛋白质(总计)	5800~8000(10^{-3} 克/100 毫升)
血清血蛋白	3000~4500
α -, β -, γ -球蛋白	2800~3800
脂 类(总计)	400~700
葡萄糖	70~90
氨基酸	35~65
尿 素	20~30
尿 酸	2~6
肌 酐	1~2
乳 酸	8~17
丙酮酸	0.4~2.0
β -羟基丁酸	3~6
乙酰乙酸	0.8~2.0
胆红素	0.2~1.4
无机成分	
Na^+	140(10^{-3} 摩尔/升)
K^+	5
Cl^-	100
HCO_3^-	20
H_2PO_4^-	4

(A.L. Lehninger, Biochemistry, 2nd ed., Worth, p. 831, 1975)

血浆中，含蛋白质5.8~8.0克，氨基酸0.035~0.065克左右，至于 Na^+ 、 K^+ ，在每升血浆中的含量分别为0.140摩尔和0.005摩尔。与此相反，在人的血浆中，每升过渡金属离子的总含量如表2-2所示，含量很少，Fe、Cu、Zn均在 1×10^{-3} 克左右。由于蛋白质、氨基酸和有机酸等一般都和过渡金属离子相结合，所以，血浆中存在的这种潜在的配位体比起金属离子来，是占压倒多数的。颇为有趣的是，血浆中金属离子的含量，恰好与海水中那些金属离子的含量相对应（表2-2）。对照来看，可以看出最初的生命是在海水中发生的（参见1.4）。

表 2-2 哺乳动物血浆与海水金属离子浓度比较

金属离子	血浆内浓度(10^{-3} 克/升)*	海水中浓度(10^{-3} 克/升**)
Na	3280	10300*
K	170	370*
Ca	99	390*
Mg	22	1320*
Zn	1.6	0.003
Fe	1.14	0.005
Cu	1.12	0.002
Mn	0.0029	0.0003
Co	0.00038	0.0000003
V	0.01?	0.001
Mo	?	0.01

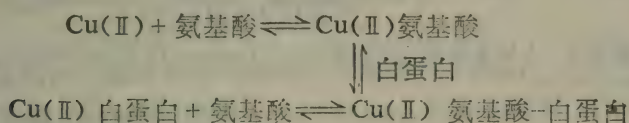
* H. J. M. Bowen, Trace Elements in Biochemistry, Academic Press, 1966

** K. Kustin, G. C. McLeod, in "Topics in Current Chemistry, Inorganic Biochemistry 1." M. J. S. Dewar et al. eds., Springer-Verlag, No. 69, 1977

人体血浆中存在的 Cu(II) 约有 93% 是与血浆铜蓝蛋白 (ceruloplasmin) 牢固地结合着, 不与外部的 Cu(II) 离子相交换。剩余的 Cu(II) 则与血清白蛋白 (serum albumin) 相结合, 迅速实现平衡。还有约 35% 的 Zn(II) 与 α_2 -巨球蛋白 (α_2 -macroglobulin) 牢固地结合, 剩余部分与血清白蛋白相结合, 与 Cu(II) 的情况相同。 Fe(III) 几乎全部与 β 球蛋白中的铁传递蛋白 (transferrin) 牢固地结合而不参与交换。

在配位体间金属离子的接收

上述 Cu(II) 、 Zn(II) 、 Fe(II) 大多与血清白蛋白等蛋白质呈结合状态, 一部分 Cu(II) 、 Zn(II) 与小分子配位体的氨基酸相结合。血浆中 Cu(II) 的氨基酸络合物已经仔细研究, 血清白蛋白和氨基酸中, 主要是组氨酸与 Cu(II) 处于如下平衡:



由上式可见, 络合物中的 Cu(II) 都是可交换的。实际上, Cu(II)-组氨酸 、 Cu(II)-谷氨酰胺 、 Cu(II)-苏氨酸 等各种络合物都在人血清中发现过, Cu(II)-组氨酸-苏氨酸 的混合配体络合物也有发现。此外, 在其他实验中, 观察到 Cu(II) 在人血清中很容易形成 Cu(II)-组氨酸-天冬酰胺 , Cu(II)-组氨酸-谷氨酰胺 以及 Cu(II)-组氨酸-苏氨酸 等混合配体络合物。将这些信息综合起来, 可以推测在血清或血浆中, 与中心金属离子结合的配位体对络合物的稳定性产生多么重要的影响。在血清中发现的 $\text{Cu(II)-L-组氨酸-L-苏氨酸}$ 络合物 Cu(L-His)(L-Thr) 。后来分离出的这个络合物的 2 水合物, 已经通过 X 射线分析法弄清了它的晶体结构, 如图 2-2 所示。

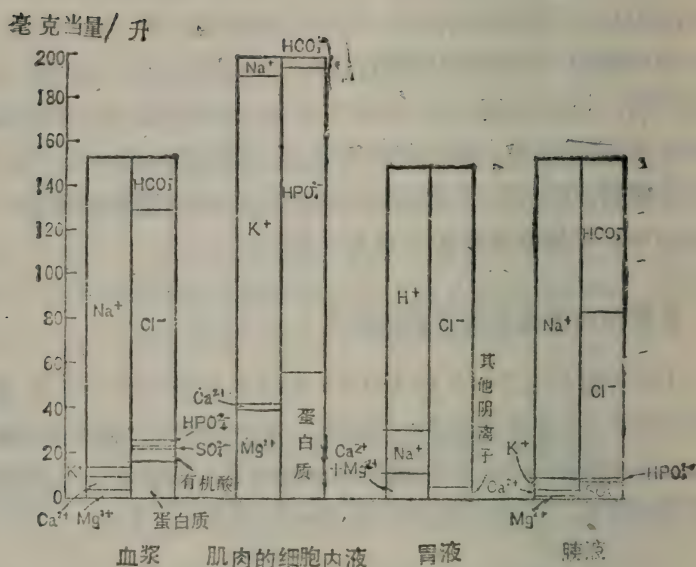


图 2-1 人体体液成分的比较 (A.L.Lehninger, Biochemistry, Worth, p. 608, 1970)

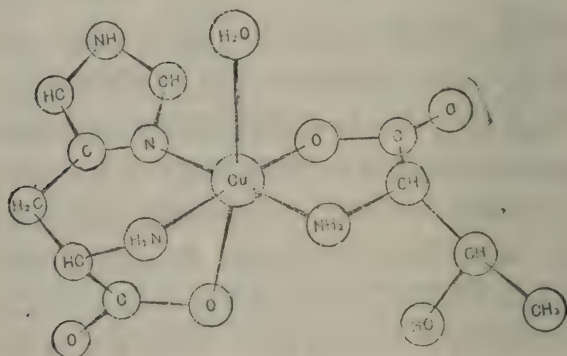


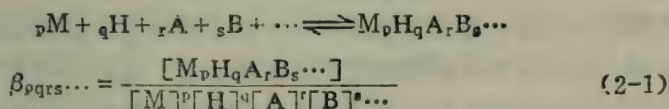
图 2-2 $[\text{Cu}(\text{L-His})(\text{L-Thr})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的结构 (H.C.Freemann, J.M.Guss, M.J.Healy, R.P.Martin, C.E.Nockolds and B.Sarkar, Chem. Commun., 225, 1969)

在该络合物中，组氨酸的氨基和咪唑基的氮在平面配位，羧基沿稍偏离轴的方向作弱的配位，组氨酸形成了三重配位，苏氨酸则为二重配位。但从图 2-2 的结构上，还找不到容易生成 $\text{Cu}(\text{L-His})(\text{L-Thr})$ 的原因。

络合物在水溶液中的平衡

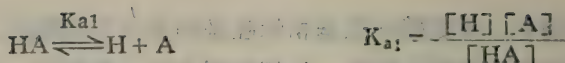
常常有这样的疑问：生物体内形成的各种络合物含量有多少？况且，在重金属中毒的解毒治疗上，共存的配位体对生成络合物的影响也是重要的。在理论上，这种平衡关系取决于络合物的稳定性和含量，表现为这个络合物的 **稳定常数** (stability constant)。

现在研究金属离子 M^{m+} 与配位体 $\text{A}, \text{B}, \dots$ 以及质子 H^+ 形成络合物的情形。其生成反应可用下式表示（为简化起见，略去电荷）：



式中， p, q, r, s, \dots ，是络合物中各成分的摩尔数， $\beta_{pqr\dots}$ 是络合物的 **总稳定常数** (overall stability constant)。近来多采用电子计算机计算稳定常数，各配位体以 p, q, r, s, \dots 顺序定位，以数码表示相应成分的摩尔数。例如，由 $\text{Cu}(\text{II})$ 与 $\text{H}^+, \text{A}, \text{B}$ 组成的系统生成 CuA_2 时，其络合物种类为 1020，稳定常数即 β_{1020} 。又如配位体 A 的质子化常数（酸离解常数的倒数）是 $\beta_{0110}, \beta_{0210}$ 等。此外，常用的还有描述各阶段平衡状态的 **分步稳定常数** (step-wise stability constant) K_1, K_2, \dots ，或是配位体的 **酸离解常数** (acid dissociation constant) K_{a1}, K_{a2}, \dots





有了这些常数, 就可以求得各种络合物的含量及其对 pH 的函数关系。现今有关这类常数的报导为数不少, 已由 Sillen、Martell* 和 Martell、Smith** 汇编成集

用电子计算机模拟血浆中的平衡

血浆若是能够达到近似的平衡, 只要知道各络合物成分的稳定常数, 就可以求得它们的含量。但是, 如前所述, 血浆是多种金属离子和多种、多数量的配位体形成的多金属-多配位体体系 (multimetal-multiligand system), 因此用实验方法了解络合物之间的平衡情况几乎是不可能的。为此, 最近采用由氨基酸、有机酸等小分子配位体及与之结合的一些金属离子组成的模型体系, 或在此体系中加入血清白蛋白的模型体系, 通过这类模型体系分别得到了利用稳定常数进行电子计算机模拟实验的报告。注意控制稳定常数的测定条件, 始终注意这是一个模型体系, 就可测得小分子络合物的相对含量, 也可以求得低于普通分析法检测限的有关游离金属离子的浓度等有用的数据。

以 Mn(II)、Fe(III)、Cu(II)、Zn(II) 等 7 种金属离子与氨基酸等 40 种小分子配位体组成一模型体系 (pH 7.4; 离子强度 I = 0.15; 37°C), 由此求得的数据, 部分列于表 2-3。

由表 2-3 可见, Cu(II) 几乎全部是以 Cu(His)₂ 和含有组氨酸的混合配体络合物形式存在; Zn(II) 主要存在于含半胱氨酸的络合物中; Fe(III) 几乎全部形成柠檬酸络合物 Fe(citrate)(OH)⁻。

• L.G.Sillen, A.E.Martell, Stability Constant of Metal-Ion Complexes, Supplement No.1, the Chemical Society, 1971

• A.E.Martell, R.M.Smith, Critical Stability Constant, Vols. 1~3, Plenum Press, 1977

表 2-3 人体血浆模型中各种络号物的分布
(pH 7.4, I=0.15, 37°C)**

络合物	含量(%)	络合物	含量(%)*
Cu(II) 络合物	21	Fe(citrate) (salicylate) ²⁻	<1
Cu(CysSSCys) (His) ⁻		Fe(citrate) (Glu) ²⁻	<1
Cu(H) (CysSSCys) (His)	17	Fe(citrate) (oxalate) ²⁻	<1
Cu(His) ₂	11	Mn(II) 络合物	
Cu(His) (Thr)	8	Mn(HCO ₃) ⁺	24
Cu(His) (Val)	5	Mn(citrate) ⁻	10
Cu(H) (His) (Lys) ⁺	5	Mn(CO ₃)	2
Cu(Aia) (His)	4	Mn(oxalate)	2
Cu(His) (Ser)	4	Mn(HPO ₄)	1
Cu(His) (Phe)	3	Zn(II) 络合物***	
Cu(Gly) (His)	3	Zn(Cys) ₂ ²⁻	40
Cu(His) (Leu)	2	Zn(Cys) (His) ⁻	24
Cu(Glu) (His) ⁻	2	Zn(His) ⁺	4
Cu(Gln) (His)	2	Zn(H) (Cys) ₂ ⁻	3
Cu(H) (His) (Orn) ⁺	2	Zn(Cys)	2
Cu(His) (Pro)	1	Zn(His) ₂	2
Cu(His) (Ile)	1	Zn(II) (Cys) (His)	2
Cu(His) (Trp)	1	Zn(Cys) (Gln) ⁻	2
Fe(II) 络合物		Zn(Cys) (CysSSCys) ²⁻	2
Fe(citrate) (OH) ⁻	99		

citrate-柠檬酸根离子 salicylate-水杨酸根离子 oxalate-草酸根离子

* 同一金属离子的总量均为 100%

** P.M. May, P.W. Linder, D.R. Williams, J. Chem. Soc., Dalton Trans. p. 588, 1977

*** G.Berthon, P.M. May, D.R. Williams, J. Chem. Soc., Dalton Trans., p. 1433, 1978

这是因为 Fe(III) 对氧配位体的亲和性很强的缘故。除水以外不与其他配位体结合的游离金属离子 Cu(II)、Zn(II)、Fe(III) 的浓度分别为 10^{-16} , 10^{-9} , 10^{-23} 摩尔/升。计算得到的与氨基酸

结合的金属离子所占该金属总量的比例为, Cu(II) 99% 以上, Zn(II) 95% 以上, Fe(III) 约 100%。与此相反, 在 Cu(II) 、氨基酸、血清白蛋白组成的体系中, 得到的结果是, 大部分的 Cu(II) 为 Cu(白蛋白) (8.9%), Cu(白蛋白)_2 (91.3%), 与氨基酸结合部分仅在 0.7% 以下。

以上所述始终是对模型体系进行的模拟, 若是不考虑那些其平衡常数未知的络合物的形成反应, 它就提供了有关微量金属离子在血浆中存在形式的有益信息。 Mo 、 Co 在生物体系中也是必需的, 但是它在血浆中的浓度比 Fe 、 Cu 、 Zn 更低 (表 2-2) 因此缺乏定量方面的资料。

金属离子在生物体中的运输和贮存形态

血清白蛋白 血清白蛋白是血浆运输者中的多面手, 除了结合金属离子外, 还可以和胆固醇 (cholesterol)、类固醇 (steroid) 脂肪酸 (fatty acid) 等结合, 维持它们在水中的溶解状态, 同时担负着运输任务。它的分子量为 68000, 是血浆中最多的一种蛋白质 (表 2-1) 它具有像吸墨水纸那样强的可和各种物质相结合的能力。血清白蛋白的这种性质, 是由于其氨基酸的排列, 使得小分子物质能够很顺利地进行和它非共价键相互作用* (参见 2.2)。例如牛的血清白蛋白分为三个区域 (domain) 区域 1 是 Cu(II) 的结合部位; 区域 2 是 Lys220 的 $\omega\text{-NH}_3^+$ 基对高级脂肪酸的结合部位, 区域 3 是 Tyr408 和 Lys411 对低级脂肪酸的结合部位。

* 非共价键相互作用 (non-covalent interaction) 正如字面所示, 是共价键以外的结合形式, 有氢键结合、偶极矩相互作用 (dipole-dipole interaction)、疏水基间键相互作用 (hydrophobic interaction) 等。是总称分子或离子间弱结合时所使用的名词。结合的强弱受离子强度、介电常数等环境条件的影响。在被蛋白质包围的疏水区域中进行的有效率而又迅速的酶反应中, 这类相互作用有极重要的意义。

(参见 E. Frieden, J. Chem. Educ., Vol. 52, p. 754, 1975. 参见本书 2.2.)

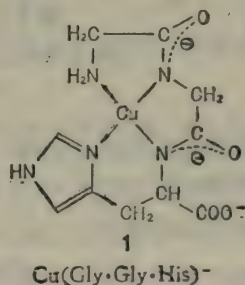
牛
大白鼠
人
犬

5 10

Asp-Thr-His-Lys-Ser-Glu-Ile-Ala-His-Arg-Phe-Lys-
Glu-Ala-His-LYS-Ser-Glu-Ile-Ala-His-Arg-Phe-Lys-
Asp-Als-His-Lys-Ser-Glu-Val-Ala-His-Arg-Phe-Lys-
Glu-Ala-Tyr-Lys-Ser-Glu-Ile-Ala-His-Arg-Tyr-Asn-

15 20

Asp-Leu-Gly-Glu-Glu-His-Phe-Lys-Gly-Leu-Val-Leu
Asp-Leu-Gly-Glu-Gln-His-Phe-Lys-Gly-Leu-Val-Leu
Asp-Leu-Gly-Glu-Glu-Asn-Phe-Lys-Ala-Leu-Val-Leu
Asp-Leu-Gly-Glu-Glu-His-Phe-Arg-Gly-Leu-Val-Leu



运输能力的降低，进而减弱了对于 Cu(II) 的缓冲能力。

运铁蛋白 在 100 毫升人血浆中约含 40×10^{-3} 克运铁蛋白。这种蛋白质是分子量约为 80000 的 β 球蛋白，每一分子中含有 2 个 Fe(III) 原子。 Fe(III) 与蛋白质结合得很牢固，不能与外部的 Fe(III) 进行交换。pH 由 7 下降到 5 时， Fe(III) 容易解离。 Fe(III) 与蛋白质的 3 个酪氨酸残基的酚基氧以及 2 个组氨酸残基的咪唑氮相结合，剩余的一个配位位置由 HCO_3^- 离子配位，推断其配位结构如图 2-4。

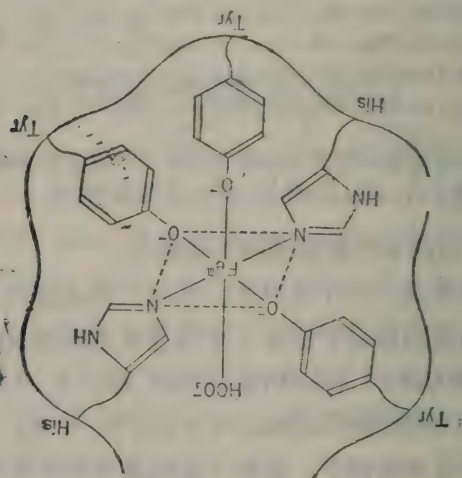


图 2-4 推测的运铁蛋白的配位结构

(R.E. Feeney, S.K. Komatsu, in "Structure and Bonding" Vol. 1, p. 149, 1966)

运铁蛋白作为 Fe(III) 的运输者，它携带铁，而幼红细胞（即未成熟的红细胞——译者注）需要铁。运铁蛋白与细胞结合后，在血液循环时吸附在幼红细胞表面， Fe(III) 进入红细胞内部，到了血红素中。 Fe(III) 就被还原为 Fe(II) 。失掉 Fe(II) 的运铁蛋白

则从下述铁蛋白的铁贮存体中再次获取 Fe(III)

铁蛋白 铁蛋白 (ferritin) 是存在于肝脏、脾脏中的蛋白质, 含有 Fe(III) , 分子量约为 900000, 每摩尔中含的 Fe(III) 数目为 4500。失去了 Fe(III) 的脱铁蛋白* (apoferritin) 分子量约 450000~480000。人体内的铁约有 70% 存在于血红蛋白(hemoglobin) 中, 约有 20~25% 贮存于铁蛋白中, 其余存在于不溶性的含铁血黄素 (hemosiderin) 颗粒中 (参见 1.4)。在铁蛋白中贮存的 Fe(III) 可用于血红蛋白的构成, 相反, 当血红蛋白分解时又由铁蛋白回收。与运铁蛋白不同, 铁蛋白才真正是铁的贮藏库, 或许是 Fe(III) 形成水合氧化物, 生成结晶性的壳, 恰好与蛋白质的间隙吻合。怎样将 Fe(III) 游离出来尚不清楚, 但是曾发现铁还原酶 (ferrireductase) 可以从铁蛋白中将 Fe(III) 还原成 Fe(II) , 而游离出来。因此, 可以断定, 将 Fe(III) 还原成 Fe(II) , 即可使 Fe(III) 与铁蛋白相分离。

血浆铜蓝蛋白 (ceruloplasmin) 这种蛋白质发现于人体及许多动物的血浆中。是分子量约 150000 的 β_2 -球蛋白。其中碳水化合物约占 8%, Cu 约占 0.3%。每分子铜蓝蛋白含有 8 个 Cu, 已知其中有 2 个蓝铜*, 2 个非蓝铜, 以及 4 个 ESR 非检出铜 (参见 2.4)。至少有一半的 Cu 呈 Cu(II) 状态。血浆铜蓝蛋白在血液中不只是铜的运输者, 同时也是贮藏者或捕捉剂。由于 Cu 在食物中含量较丰富, 所以必须要有防止在体内蓄积的机构。若缺少这种机构, 或是这种机构不能很好地发挥作用, 则 Cu 就会在体内的肝脏、肾脏、脑等处过多地蓄积起来, 从而引起脏器

* 脱辅基蛋白 (apoprotein)、脱辅基酶蛋白 (apoenzyme) 是从蛋白质 (复合蛋白质) 中除去辅基 (prosthetic group) (如下例的 Cu(II) , 细胞色素类的血红素等) 或辅酶 (coenzyme) (相当于易于解离的辅基 NAD, FMN) 的蛋白质部分。原先的蛋白质称为全蛋白质 (holoprotein) 或全酶 (holoenzyme), apo 表示“离开”、“分离”, hol(o) 表示“全体的”、“完全的”意思。

* 铜蓝蛋白中, 显蓝色的称作蓝铜, 反之则称为非蓝铜。——译者

病变。这种病名叫 **Wilson 氏病**，是一种先天性疾病，是因患者血液中的血浆铜蓝蛋白不足而引起的。治疗 Wilson 氏病使用 D-青霉胺(β, β -二甲基半胱氨酸)，疗效显著。如果还不能除掉 Cu，就用三乙撑四胺(Trien) 那样的螯合剂。血浆铜蓝蛋白还是能将 Fe(II) 氧化成 Fe(III) 的氧化酶。但是对这种蛋白质在生理学上的意义，还不甚了解。

血浆铜蓝蛋白中 Cu 的结合部位，据推断是组氨酸的咪唑氮以及半胱氨酸的巯基，但是还不太有把握。Cu 是血浆铜蓝蛋白的一个构成要素，在活体内不能与 Cu(II) 离子交换。但在体外，可以将 Cu(II) 全部还原成 Cu(I) ，与外部的 Cu(I) 交换。pH 降到等电点以下时，用 CN^- 离子处理，失掉 Cu 以后就得到脱辅基蛋白（脱辅基血浆铜蓝蛋白）。

2.2 锌酶的结构和机能

锌是仅次于铁而在细胞中大量存在的过渡金属，是必需元素之一。缺乏 Zn(II) 的动物，发育迟缓，生殖器的发育及生殖机能受障阻，智力迟钝，等等。现今已知多种酶（主要是水解酶）的活性中心里含有 Zn(II) ，酶的结构与反应机理也正在被阐明。但是，上述病症和 Zn(II) 催化反应之间的关系仍然不明瞭。

含有金属的酶，通常可分为两类，一类是金属与蛋白质强弱不等地结合而成的金属酶，另一类则为必须由金属才能激活的酶。为了辨别是不是金属酶，随着酶的纯化，金属对蛋白质的比值增大时，必须注意金属含量与酶的活性之间有无直接的影响。含有 Zn(II) 的金属酶是 Zn(II) 蛋白质络合物，其解离常数约 10^{-10} 摩尔/升或更小。已经弄清楚性质的锌酶如表 2-4 所示。如 1.2 所述， Zn(II) 是四面体的配位结构，其结合部位主要是组氨酸残基的咪唑基，谷氨酸残基的 γ -羧基，以及半胱氨酸残基的巯基

(SH)。在蛋白质内部疏水区域中, $Zn(II)$ 作为强路易斯酸而作用于底物。在生物体内的 $Zn(II)$ 不参与伴有原子价变化的反应, 因此, $Zn(II)$ 的作用主要是从电子密度高的原子(团)那里吸引电子, 例如催化水解反应。

在此, 举出已充分研究了其结构与性质的锌酶, 来讨论 $Zn(II)$ 的结合形式与机能。

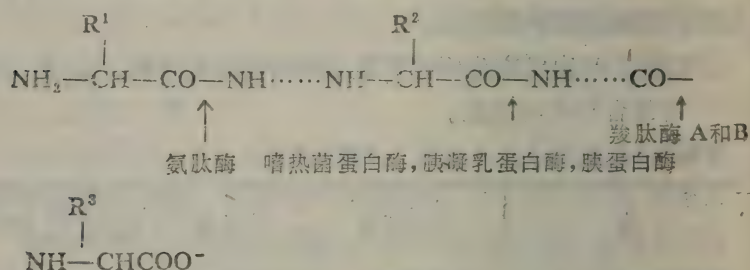
表 2-4 锌 酶

酶	所在位置	分子量	每分子的 $Zn(II)$ 数	辅因子
羧肽酶A	牛胰脏	34500	1	4Ca(II)
羧肽酶B	牛胰脏	34000	1	
氨肽酶	牛水晶体	324000	12	
	猪肾脏	300000	6	
嗜热菌蛋白酶	嗜热蛋白水解杆菌	37500	1	2NAD
碱性磷酸(酯)酶	大肠菌	80000	2	
碳酸脱水酶B	人红细胞	26600	1	
	牛红细胞	31000	1	
碳酸脱水酶C	人红细胞	32600	1	2NAD
乙醇脱氢酶	马肝脏	87000	4	
醛缩酶	酵母	80000	2	
	大肠菌	135000	2	
DNA聚合酶	大肠菌	109000	2	

羧肽酶A与羧肽酶B

生物体摄取的蛋白质经各种蛋白水解酶(蛋白酶 protease)作用, 分解为氨基酸。首先, 由胃内的胃蛋白酶(pepsin)将蛋白质水解为长链的多肽。这些多肽进一步被水解, 起作用的酶有: 内切酶(endopeptidase)——将肽链内部的肽键水解, 肽链端解酶(exopeptidase)——将肽链的N末端及C末端的肽键水解。内切酶有属于锌酶的嗜热菌蛋白酶(thermolysin), 不含金属的

胰凝乳蛋白酶 (chymotrysin) 和胰蛋白酶 (trypsin)。肽链端解酶有属于锌酶的**氨肽酶** (aminopeptidase) 和**羧肽酶** (Carboxypeptidase)。这些酶的作用部位*表示如下:



羧肽酶将蛋白质、多肽、二肽等C末端的肽键水解, 尤其是羧肽酶A(CPA) 对于C末端的残基中含有芳香基或疏水基(脂肪族碳链)的L-氨基酸有专一的作用。也有一种羧肽酶可作为酯的水解催化剂。从牛胰脏中得到的羧肽酶A(图2-5)是由一个Zn(II)和307个氨基酸组成, N端氨基酸是L-丙氨酸。这个酶是用X射线分析法(分辨率0.20nm)探清结构的第一个金属酶。其结构见图2-5。它的大小为 $5 \times 4.2 \times 3.8\text{nm}$, 近乎球体, 约1/3是螺旋状结构, 约1/2是不规则结构(参见1.2), 其余部分为折叠的平板状, 即 β 折叠结构(参见1.2)。活性中心位于表面附近的裂纹(cleft)或裂缝(revice)处, 锌在其中, 它与酶蛋白中的His69、His196的咪唑氮和Glu72的羧基氧配位。Zn(II)的第四配位位置是 H_2O , 形成变形的四面体结构。用X射线分析, 它是羧肽酶A和模型底物的络合物, 也即所谓的EMS络合物*。将其与羧肽酶A的结构相比较, 可帮

• 这些酶由于氨基酸残基的侧链R的性质而显示出作用部位的特异性。

* enzyme-metal-substrate complex (酶-金属-底物络合物)的简称。酶反应时, 酶(E)和底物(S)形成了中间体络合物(EScomplex)。若酶为金属酶, 则含有金属M, 就形成酶-金属-底物络合物。

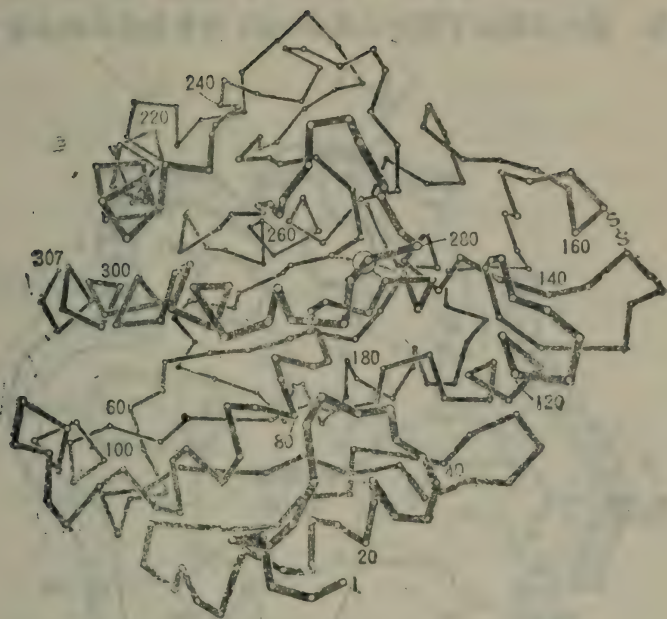


图 2-5 来自牛胰脏的羧肽酶 A 的结构

(W.N.Lipscomb, J.A.Hartsuck, F.A.Quiocho,
G.N.Reeke, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 64,
p. 28, 1968)

帮助我们理解反应机理。底物是用水解速度比普通肽慢 10^3 倍的甘氨酸-L-酪氨酸。(Gly·L-Tyr)。其 EMS 络合物活性部位的结构模式如图 2-6。

在这一结构中可见, Gly·L-Tyr 从酶的活性中心裂缝处插入, 其 C 端的一 COO^- 基与 Arg145 的胍基以静电结合, 在活性中心固定下来。底物酪氨酸残基的侧链, 恰好被特殊的疏水穴装进去, 这正说明了底物的专一性。肽键的 >C=O 基取代了与 Zn(II) 配位的水分子而与 Zn(II) 相结合。Tyr248 当底物不在时伸向裂缝的外侧; 形成 EMS 络合物时, 反转过来伸向活性中心的内

侧。在疏水环境中， $Zn(II)$ 吸引电子的能力极为有效地传递到肽键。键的切断如下图所示是 Glu270 与参加反应的水分子直接

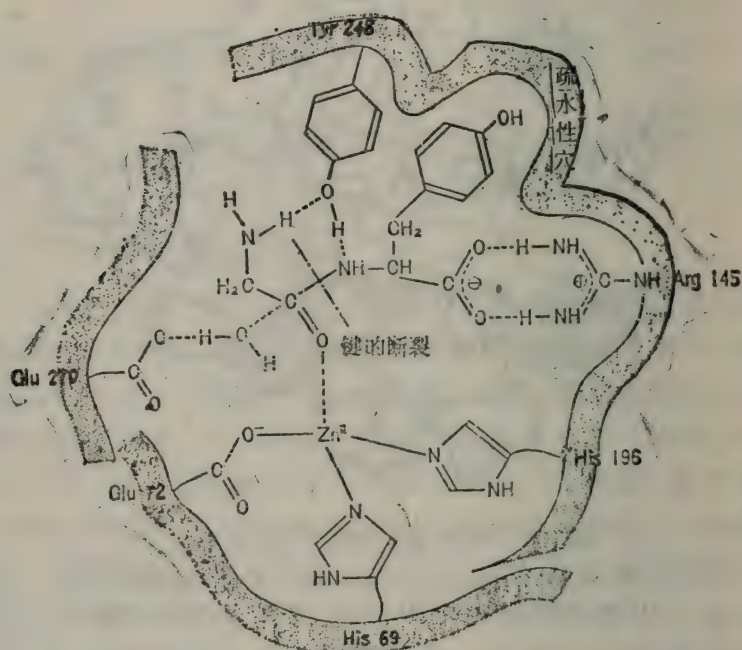
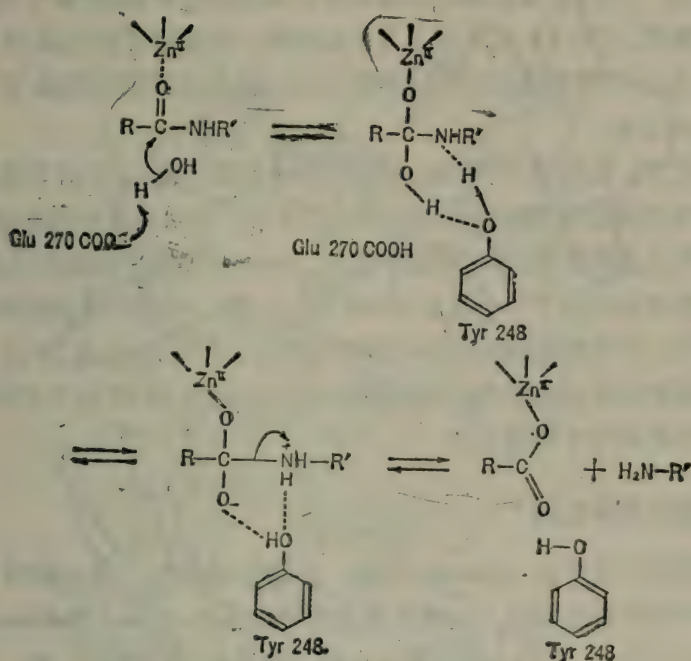


图 2-6 羧肽酶 A 和甘氨酸-L-酪氨酸络合物模式

(W.N.Lipscomb, G.N.Reeke, J.A.Hartsuck,
F.A.Quiocho, P.H.Bethge, Phil. Trans. Roy,
Soc. Lond., Vol. B257, p.177, 1970)

作用，向 Tyr248 供给质子而完成。

用 X 射线分析结果来解释酶反应的机理当然是重要的，但是要注意，这样得出的结构终究只是酶的固体状态，是静止的东西。在实际的反应中，并不一定完全与此相同结构的过程符合一致（参见 3.1）。有关羧肽酶 A 的 $Zn(II)$ 被其它过渡金属离子置



换时的酶活性、各种光谱以及酶的化学修饰影响酶活性等的研究成果,有助于了解酶的反应机理。将 Arg145 用双乙酰基修饰后,肽酶活性降为“零”,而酯酶*活性则提高3~4倍。对于包括 Tyr248 在内的酪氨酸残基的修饰,也显示相同的结果。这表明 Arg145、Tyr248 对肽酶的活性都是必需的。就 Arg145 来说,由于它与底物的静电结合引起了结构上的变化。当然,组氨酸残基、Glu 270 的化学修饰也会使酶失去活性。

用 Cu(II) 置换酶中的 Zn(II) , 肽酶活性会提高 2 倍以上。

* 酯酶(esterase)是能水解酯的酶。

若用 Mn(II) 、 Fe(II) 置换时，其活性就降到 $1/3$ 以下。更为有趣的是， Cu(II) 羧肽酶的肽酶活性、酯酶活性等都是“零”。ESR 光谱表明， Cu(II) 在本质上为平面结构，它没有活性的原因可能是由于 EMS 络合物的立体构型以及过渡状态不同而反映到酶的活性上来。

此外，羧肽酶 B(CPB) 和羧肽酶 A 不同的是，它对 C 端有精氨酸及赖氨酸残基的肽链有专一性作用。羧肽酶 B 与羧肽酶 A 在结构上性质相似，作用机理也类似。由于有许多半胱氨酸残基，可以断定不会只有一个巯基与 Zn(II) 结合。考虑到底物特异性的不同，在与羧肽酶 A 疏水穴相对应部分，估计存在着与精氨酸、赖氨酸等带有正电荷的链相结合的谷氨酸那样的 $\gamma\text{-COO}^-$ 基，但是至今了解尚不够。

嗜热菌蛋白酶

嗜热菌蛋白酶 (thermolysin) 发现于细菌中，是一种对热稳定的蛋白质水解酶。从嗜热蛋白水解杆菌 *Bacillus thermoproteolyticus* 得到的嗜热菌蛋白酶，分子量为 37500，每一分子含有 1 个 Zn(II) 和 4 个 Ca(II) 。它是可以将肽链内部的键水解的内切酶，对亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸那样侧链上具有疏水基的氨基酸残基作为 N 端的肽键起作用。用 1,10-菲罗啉将 Zn(II) 夺走，酶即失去活性，但仍保持热稳定性。若将 Zn(II) 重新加入到这个酶中，酶又完全恢复活性。这样就判明了 Zn(II) 是显现活性所必需的。若是用 EDTA 将所有的 4 个 Ca(II) 和 1 个 Zn(II) 全部去除，恢复活性就很困难了。

将嗜热菌蛋白酶用 X 射线进行结构分析 (分辨率 0.20nm)，可见酶被一道“沟”分为两部分， Zn(II) 就位于“沟”内 (图 2-7)。 Zn(II) 与蛋白质的结合，是由 His142、His146 的两个咪唑氮以及 Glu166 的 γ -羧基氧配位的，与羧肽酶 A 相同 (图 2-8)。

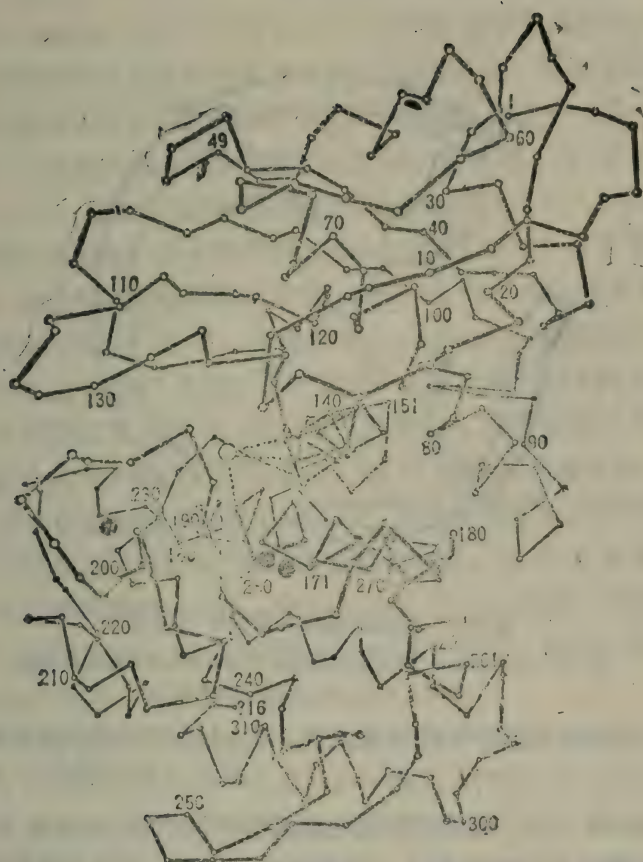


图 2-7 来自嗜热蛋白酶分解杆菌的嗜热蛋白酶的结构
(B.W.Mathews, J.N.Jansonius, P.M.Colman, B.P.
Schoenbrun, D.Dupurque, *Nature (New Biol.)*, Vol.
238, p.37, 1972)

第 4 个配位位置可能是由 H_2O 占据, 在 $Zn(II)$ 的周围形成畸变四面体。由于不可能进行 EMS 络合物的 X 射线分析, 因此对于 $Zn(II)$ 参与位于活性中心附近的各种氨基酸残基的反应还不清

楚。但是，从图 2-7 的结构可以看出，羧肽酶 A 中的 Glu270 的

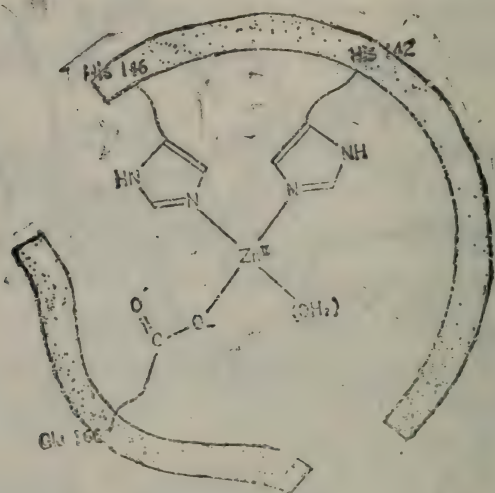


图 2-8 嗜热菌蛋白酶活性中心模式

(P.M. Colman, J.N. Jansonius, B.M. Matthews, *J. Mol. Biol.*, Vol. 70, p. 701, 1972)

作用在这里则是由 Glu143 完成的。Arg145 藉静电结合将肽链 C 端固定住，与之相对应的是 Arg203，在嗜热菌蛋白酶里的 Arg203 与 Asp170 结合，而不参与底物的 C 端羧基的结合。由于嗜热菌蛋白酶不同于羧肽酶 A，而是肽链内切酶，因此 C 末端无需固定，这种现象颇令人感兴趣。Tyr157、His231 存在于活性中心附近，机能尚不清楚。4 个 $\text{Ca}(\text{II})$ 中的 2 个相互靠近，与水分子、蛋白质的极性基相互作用，这样能使酶结构稳定。

碳酸酐酶

在生物体可以将 CO_2 和水结合为 HCO_3^- (或 H_2CO_3)，也可以将 HCO_3^- 分解为 CO_2 和 OH^- 。这种反应在缓冲作用上有重要

的意义。催化这个反应的酶，即碳酸酐酶 (CA) (carbonic anhydrase)。这种酶广泛地存在于动物的组织中，其中发现最早的是锌酶。在植物中也曾发现含有 Zn(II) 的碳酸酐酶。从哺乳动物的红细胞中得到的都是分子量约 30000 的锌酶，每个分子含有 1 个 Zn(II) 。碳酸酐酶的反应速度在已知酶中最高的，为 $10^7 \sim 10^8$ 摩尔/(升·秒)。碳酸酐酶的反应机理在过去已持续争论了 10 年以上。早期值得注意的信息都是由 Riepe、Wang 经红外光谱测定得到的。他将牛的碳酸酐酶水溶液 ($\text{pH} 5.5$) 处于 CO_2 的平衡状态，然后进行测定，其 CO_2 的吸收峰在 2341cm^{-1} ，与单独的 CO_2 水溶液中的 2343cm^{-1} 相同。另一方面，在有碳酸酐酶之外的非活性蛋白质存在下， N_3^- 有 2016cm^{-1} 的吸收，在有碳酸酐酶存在时其吸收向 2094cm^{-1} 移动，表明* N_3^- 与 Zn(II) 直接结合。通入 CO_2 后的碳酸酐酶水溶液中加入 N_3^- ，其吸收峰移至 2094cm^{-1} ，但比纯 CO_2 时的 2341cm^{-1} 吸收峰波数小得多。从以上事实可见，即使碳酸酐酶吸收 CO_2 ， CO_2 也不与 Zn(II) 结合，在疏水穴处 N_3^- 趋向 Zn(II) 配位处于较近的位置。 HCO_3^- 与 CO_2 不同，能与 Zn(II) 结合，模型如图 2-9。

这里， HCO_3^- 的 O^- 与 Zn(II) 结合，其余部分存在于疏水穴的沟处。

CO_2 在酶中进行水合的机理有两种假说。其一为，蛋白质中的基团 (例如 $-\text{NH}_3^+$) 脱质子化而与 Zn(II) 配位， H_2O 再度质子化的同时，产生的 OH^- 将已有的 CO_2 变为 HCO_3^- ，估计是 HCO_3^- 与 Zn(II) 配位。但是从后述 X 射线分析结果了解到，这样的配位体在 Zn(II) 的近处是不存在的，而且新的基团在 Zn(II) 配位时，不会增加络合物的稳定性，上述假说缺乏说服力。还有一种假说认为，离子化的基团使与 Zn(II) 配位的水分

• 即组氨酸中咪唑基以其 N_3 与 Zn(II) 结合。——译者

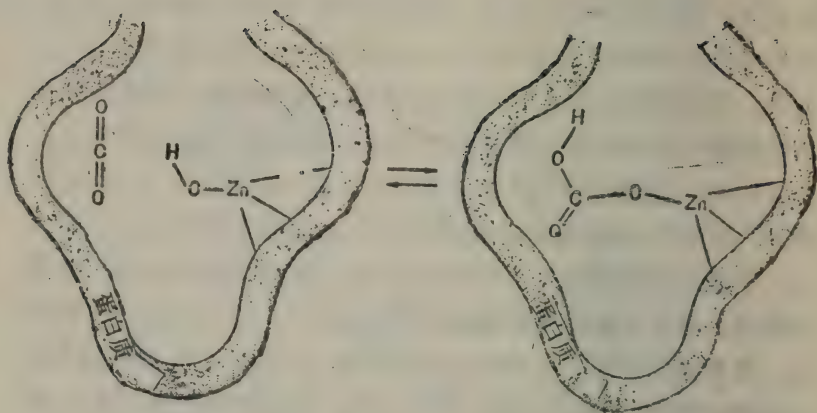
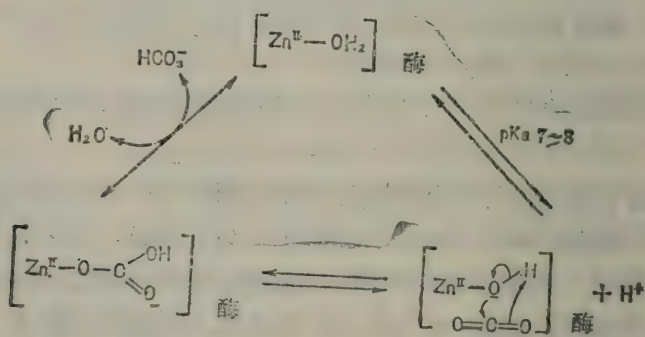


图 2-9 Riepe、Wang 的碳酸酐酶活性中心模式

子成为 $\text{Zn(II)}-\text{OH}$ ，进而攻击了在酶中的 CO_2 。这种假说有一定的根据，如随着 pH 的上升，酶的活性也提高，就说明了这一点。用图式表示如下：



这一机理包含了 2 个阶段的质子转移，即从 $\text{Zn(II)}-\text{OH}_2$ 生成 $\text{Zn(II)}-\text{OH}$ ，由 $\text{Zn(II)}-\text{OH}$ 再生成 $\text{Zn(II)}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ ，但如何说明这种极为迅速的质子转移，还有困难。对此，如图 2-10 那样， H_2O 分子的高度的有序排列可以说明问题。加入 Cl^- 对于酶

的作用有阻碍，其原因就是 Cl^- 与 $\text{Zn}(\text{II})$ 的结合扰乱了这种秩序。不论怎么说，这种酶催化的 CO_2 的水合速度依赖于 pH ，现在已经了解在蛋白质中存在的 $\text{pK}_a 7 \sim 8$ 的残基的碱型浓度的比例，脱水速度相同的残基的酸型浓度的比例，这或许可以说明上面的反应式。

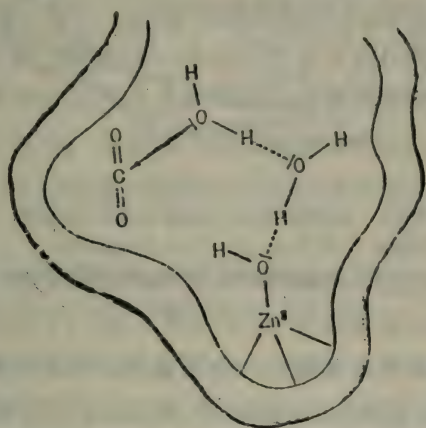


图 2-10 在碳酸酐酶活性中心水分子的排列

用 $\text{CO}(\text{II})$ 置换的碳酸酐酶具有如前述的羧肽酶 A 类似的酶活性[为 $\text{Zn}(\text{II})$ 时的 $1/2$]，与 $\text{Zn}(\text{II})$ 相同， $\text{CO}(\text{II})$ 也是四面体配位结构。利用可见区吸收光谱的变化情况，可以得到 $\text{CO}(\text{II})$ 置换体的 pK_a 。

在人的红细胞里含有 B 和 C 两种碳酸酐酶；CAB 和 CAC，已由 X 射线在最近分析出来。碳酸酐酶 C 是用分辨率为 0.2nm 的 X 射线分析结果，如图 2-11 所示，为 $4.1 \times 4.1 \times 4.7\text{nm}$ 的球状酶， $\text{Zn}(\text{II})$ 存在于约 1.5nm 深的凹坑底，在这凹坑底里的水分子排列整齐。

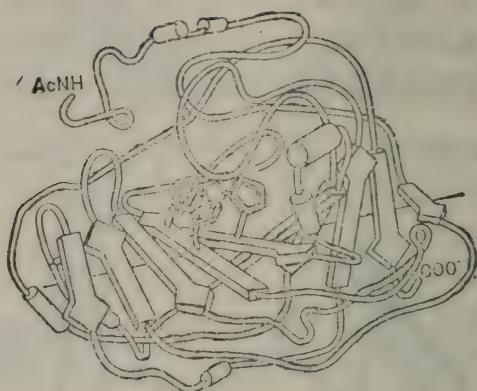


图 2-17 人的红细胞中碳酸酐酶C的结构
(A. Liljas, K.K. Kannan, P.G. Bergstén,
L. Järup, S. Lövegren, M. Petef, *Nature (New Biol.)*,
Vol. 235, p. 131, 1972)

可以用其它金属离子来置换酶的金属离子，然后比较两者的稳定常数。如用 Cu(II) 置换后，其 ESR 光谱与 2,2'-联吡啶的 Cu(II) 络合物相近似，因此能断定它有 3 个氮原子配位。以 X 射线分析，恰好是 His93, His95, 和 His118 (X 射线分析结果中也有认为是 His117 的) 的 3 个咪唑氮与 Zn(II) 结合。剩余的一位置被水分子或 OH^- 离子所占据，在 Zn(II) 的周围形成了畸变四面体。此外，也以 X 射线分析了碳酸酐酶 B。它的活性比碳酸酐酶 C 的活性低，约为 1/30。碳酸酐酶 B 在红细胞中的存在量比碳酸酐酶 C 要多。两者的氨基酸排列相似，三级结构也极为近似。即 Zn(II) 与 3 个组氨酸残基 His94, His96, His119 的咪唑氮相结合，处于深 1.2nm 的凹坑底。 H_2O 或 OH^- 占据第四配位位置，在 Zn(II) 的周围形成了畸变四面体结构。

非共价键作用在生物反应中的重要性、选择性与酶的关系

生物体中的非共价键作用 (non-covalent interaction) 最近颇引人注意, 因为它是生物体显现反应的高效率、高适应性和特异性的基础。酶反应的高效率和高选择性是由于酶-底物之间微弱的特异性相互作用造成的。抗原-抗体反应的迅速和特异、激素与其受体的结合等多数生物反应, 必须以非共价键作用来解释这些可逆反应的灵活性和快速性。这种非共价键作用是紧密的共价键以外的结合形式的总称, 是氢键乃至静电相互作用以及疏水基间的相互作用。表 2-5 列出蛋白质内的非共价键作用和它们的稳定化能(键能)。

前述羧肽酶 A 是靠静电的相互作用与底物结合, 才产生酶反应特异性效果的例子。即, 酶的 Arg145 的胍基和肽链 C 端的羧基以静电性结合, 将底物固定下来, C 端的肽键是处于易与酶蛋白其它部分相互作用的位置上, 而且易受 Zn(II) 路易斯酸的攻击。通常认为这种酶-底物间的相互作用模型不只限于羧肽酶 A。由非共价键作用而产生底物特异性的典型例子, 不是金属酶, 而是胰凝乳蛋白酶 (chymotrypsin) 与胰蛋白酶 (trypsin)。

胰凝乳蛋白酶是在肽键上羰基侧的氨基酸残基——苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸的部位上作用, 胰蛋白酶在赖氨酸、精氨酸部位起特异性的作用。这类酶称为丝氨酸蛋白酶 (serine protease), 其活性中心有丝氨酸。由 X 射线分析判断, 胰凝乳蛋白酶的活性中心是由 His57、Asp102、Ser195 形成的, 对于氨基酸残基的识别是依据 Ser189。与此相反, 胰蛋白酶的活性中心相同, 但与 Ser189 相对应的部位为 Asp189。Asp189 的 β -羧基与底物的赖氨酸、精氨酸残基侧链的氨基和胍基呈静电相互作用, 因而决定了酶的作用部位。图 2-6 所示模型的胍基与羰基之间的作用,

如以 X 射线分析实际的 Arg-Glu 结晶, 则如图 2-12, 判明 Lys
 与 Asp 也是极性相互作用。

表 2-5 蛋白质中非共价键作用

相互作用	例	稳定化能 千焦/摩尔 (千卡/摩尔)
氢键	<p>极性基间</p> <p>极性基与离子性基间</p>	3.4~21 (2~5)
静电相互作用		<42 (<10)
疏水相互作用	<p>芳香环的重叠</p>	1.26 (0.3) 6.3 (1.5) 6.3 (1.5)

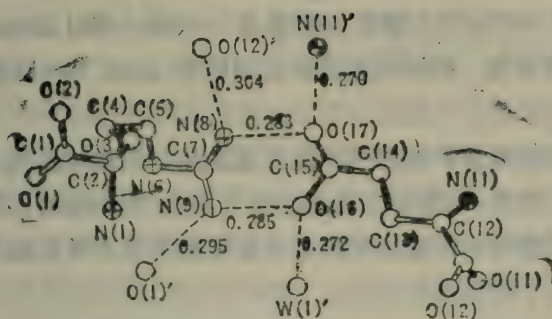


图 2-12 精氨酸与谷氨酸盐的作用 (T.N.Batt, M.Vijayan, *Acta Crystallogr.*, Vol.B33, p.1754 (1977)) 数字表示氢键的键长 (nm)

从马肝脏得到的乙醇酐酶与其辅因子 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide) (辅酶 I) 类似的化合物 ADP-核糖相结合, 用 X 射线分析 (分辨率 0.24nm) 弄清了腺嘌呤与酶蛋白之间的疏水键及焦磷酸与 Arg47 之间的离子键起着重要作用。

非共价键作用对于血红蛋白亚基的结合 (参见 2.3) 起着决定性的作用。4 个亚基中有 2 个是 α 链, 2 个是 β 链, 它们之间的结合力是蛋白质固有的正负极之间的静电作用力和疏水基间的相互作用力。正常的血红蛋白为血红蛋白 A (HbA)*, 已知发生遗传变异的是 β 链的第 6 位谷氨酸残基被缬氨酸残基所取代, 形成血红蛋白 S (HbS)**。谷氨酸与缬氨酸的差异起很大影响, HbS 的脱氧体

* 人体有 3 种血红蛋白, HbA、HbA₂ 和 HbF。成人体内主要成分为 HbA, 占 95% 以上, HbA₂ 占 2%, HbF 占 1% 以下。——译者

** 由于遗传物质的变化, 如单个碱基取代, 终止密码变异或移码突变, 引起合成的血红蛋白异常。异常血红蛋白种类繁多。HbS 是人体内发现的第一种, 它的 β 链第 6 位氨基酸发生变化, 人血中 HbS 的含量达 90% 以上时, 出现镰状红细胞贫血症。——译者

上 β 链的Val6与 α 链的适当的疏水基相互作用,就形成了血红蛋白长链的缔合。其结果是红细胞变形,形成月牙状的**镰形细胞**(sickle cell),称为**镰形血红蛋白**(sickle-cell hemoglobin)。因为它寿命短,所以引起**镰状红细胞贫血症**(sickle cell anemia)。

生物体内弱的相互作用除上述之外,已知的还有形成DNA双螺旋的氢键,核酸碱基之间的彼此重叠。在未知的体系中可能还存在多种多样的相互作用,其中还可能存在不必依赖于稳定的共价键而富于适应性的反应。

2.3 各种载氧体的结构和功能

生物从外界摄入氧并输送到细胞里,用来氧化从食物中取得的营养素等有机物质,从而利用所产生的化学能进行生命活动。各种生物都选用一定的色素蛋白来运输氧。脊椎动物是用**血红蛋白**(Hemoglobin, Hb),即用具有辅基——**血红素**的复合蛋白作为载氧体。在Hb中能够可逆地结合氧的主要是血红素中心的Fe(II)。另外,甲壳类和软体动物的载氧体是一种称为**血蓝蛋白**(Hemocyanin, Hc)的铜蛋白。这个名词很容易被误解,Hc没有血红素,而且它藉Cu(I)而不是藉Fe(II)与O₂结合。Cu与蛋白质的侧链直接联结,2原子的Cu与1分子的O₂相结合。在Cu周围的情况,尚有许多未搞清楚。星虫等多种海洋无脊椎动物的载氧体是**蚯蚓血红蛋白**(Hemerythrin, Hr)。Hr也没有血红素,但是一种非血红素铁蛋白,与O₂结合的是Fe(II)。同Hc中的Cu一样,Fe也是直接联结在蛋白质侧链上,2原子的Fe与1分子的O₂相结合。最近,虽由X射线晶体分析进一步研究,Hr与Hb也仍然同样地未弄清楚。此外,海鞘类的载氧体称为**血钒素**(Hemovanadin, Hv),是含有V(III)的蛋白质,颇

引人注意，但也有全然否定的论文，尚无确实的结论。广义的Hb包括了无脊椎动物血红蛋白（erythrocruorin），它是水蚤（即鱼虫）、沙蚕、蚰子、蛔虫等的载氧体。环形动物的带虫类、龙介类的血液色素称为血绿蛋白（chlorocruorin），乃是血绿蛋白红素（chlorocruorohene）辅基的复合蛋白质作为载氧体。在蛤蜊的血液发现了含有钼的蛋白质，估计它具有运输氧的功能，称为羽蛋白（pinnaglobin）。

现将以上各种生物的载氧体列表作一比较。内容限于现阶段生物无机化学的讨论范围（表2-6）。

表 2-6 具有载氧功能的金属蛋白质

	血红蛋白 Hb	肌红蛋白 Mb	血蓝蛋白 Hc	蚯蚓血红蛋白 Hr
金属品种	Fe	Fe	Cu	Fe
功 能	运输	贮存	运输	运输
金属: O ₂	Fe:O ₂	Fe:O ₂	2Cu:O ₂	2Fe ₂ :O ₂
金属配位	卟啉	卟啉	蛋白质侧链	蛋白质侧链
脱氧体	红紫	红紫	无色	无色-黄
含氧体	红	红	蓝	紫-红
分子量	65000	17000	10 ⁵ ~10 ⁷	108000
亚基数	4	1	多个	8
存 在	脊椎动物 的红细胞	肌肉中	甲壳类软 体动物的 血淋巴	星虫等海洋无 脊椎动物的血 球、血浆

生物因种类的不同，或在陆上生活，或在水中生活。在各式各样环境中，氧的浓度不同。此外，激烈运动的生物，和在泥沙中以及空贝壳中几乎不运动的生物如蛔虫等，对氧的需要程度也不尽相同。生物是多种多样的，为了适合于它们各自的生命活动，就需要有相应的生物学结构，为使结构与功能相适应，因而选用了

不同的载氧体。与此有关的问题十分有趣，现就表 2-6 中的四种载氧体加以说明。

血红蛋白和肌红蛋白的结构

血红蛋白 (Hb) 是存在于脊椎动物红细胞中的色素蛋白质，由球蛋白和血红素构成。它具有在氧分压高的肺中以及鳃中与 O_2 结合，在氧分压低的组织内放出 O_2 的功能。与 O_2 直接结合的是血红素中的 $Fe(II)$ 。血红蛋白的分子量为 64450 (哺乳类)，成人的 Hb 分子是由 2 条 α 链和 2 条 β 链形成的四聚体。 α 链由 141 个氨基酸残基、 β 链由 146 个氨基酸残基组成。它的一级结构已经清楚。各亚基分别含有一个血红素。Perutz 用 X 射线分析 β 链的结果如图 2-13 所示。

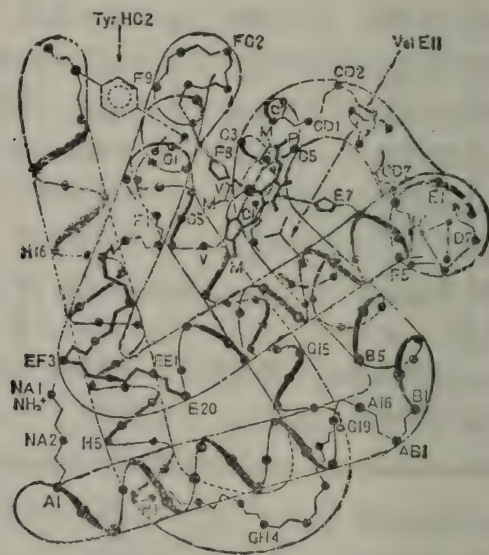


图 2-13 血红蛋白 β 亚基的结构
(M. F. Perutz, L. F. TenEyck, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, Vol. 36, p. 295 (1971))

在图 2-13 中, 靠近 N 端的螺旋部分以 A, B, ...H 符号表示, 非螺旋部分在 N 端以 NA, 在 c 端以 HC, 在螺旋部分相互之间以 AB, BC 等表示。辅基血红素藏在 E 螺旋段与 F 螺旋段所形成的凹穴中, F 螺旋部分的 HisF8 的咪唑氮与血红素铁配位结合。血红素含有丙酸羧基的一侧靠近表面, 其余部分则深埋在球蛋白的内部。在血红素铁的第六配位位置的稍远处有 HisE7 的咪唑氮^{*}。脱氧型血红蛋白 (deoxy-Hb) 被认为是五配位的。

肌红蛋白 (Mb) 与 Hb 相同, 也是血红素蛋白, 存在于肌肉细胞内, 具有贮藏 O_2 的功能。球蛋白部分 (抹香鲸, sperm whale) 是由 153 个氨基酸残基组成的一条肽链, 分子量为 17000。它含有 1 个血红素, 相当于 Hb 四聚体中的 1 个单体。其大致的结构如图 1-5 所示, 图 2-13 是 Hb 中的一个亚基, 两者极其相似。

再看一下血红素与珠蛋白的结合。最主要的结合是 HisF8 的咪唑氮与 $Fe(II)$ 的配位, 此外还有血红素-蛋白质间的弱作用。例如与 O_2 结合的 Hb, 即氧合 Hb (Oxy-Hb), 随着 X 射线分析的分辨率的提高, 已经可以判明血红素与球蛋白之间约有 60 个原子是以范德华力相互作用的。而且, 对于不同种类哺乳动物的球蛋白, 这 60 个原子几乎全是同样的氨基酸残基原子。这并非偶然, 为了表达血红素的全部功能, 它必须与周围产生相互间作用。此外, 血红素的丙酸羧基 (参见图 2-14) 和蛋白质碱基部分的相互作用, 对

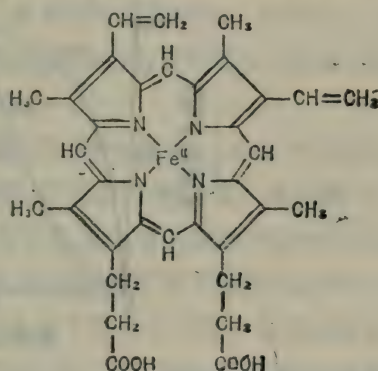


图 2-14 血红素的结构

• 以 $Fe(II)$ 为中心, 与 HisF8 的咪唑氮相对称。——译者

于血红素能稳定地容纳在球蛋白内部的凹穴里，是很重要的，就 Mb 而言，至少有 1 个羧基确与 Arg 残基有着静电相互作用。已知在羧肽酶 A（参见 2.2）的活性部位 Arg145 的胍基与底物 Gly·L-Tyr 的末端羧基通过包含氢键在内的静电作用相接触，同样是酶与底物的相互作用。

血红素的乙烯基也对球蛋白构象中的疏水结构的内部取向，为稳定化作出一定的贡献。脱氧型（deoxy）以卟啉核的侧链与 O_2 结合成氧合型（Oxy），在结构上起了变化，同时对于周围蛋白质的构造也产生显著的影响（参见下一段落论述）。

血红蛋白和肌红蛋白的氧平衡机能

Hb 的氧平衡功能有以下三个特点：1. 对氧有亲和性，2. 血红素间相互作用，3. Bohr 效应。设氧饱和度为 Y ，氧分压为 p ， Y 和 p 之间的关系如图 2-15 所示。

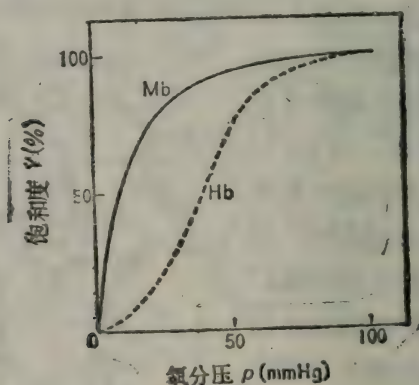


图 2-15 Mb 及 Hb 的氧饱和曲线

Mb 的氧饱和曲线形如双曲线，Hb 是 S 形（S 型），这是根本不同之处。总之，饱和度 Y 达到 50% 时，其氧分压 $p_{1/2}$ （称为半

饱和分压) 是 Hb 及 Mb 对氧亲和性的尺度。图 2-15 已表明 Mb 比 Hb 对氧的亲合性大, 即前者的 $p_{1/2}$ 的值小。

Hb 的 S 型氧饱和曲线用公式表示, 下面为简便的 Hill 经验式(2-2)

$$Y = \frac{Kp^n}{1 + Kp^n} \quad (2-2)$$

式 2-2 中 K 为 Hb 与 O_2 结合的平衡常数, n 是在平衡状态时亚基所具有的平均缔合数, 或者是反映血红蛋白间相互作用的数值。成人 Hb 的 $n \approx 2.9$ 。若 $n=1$, 则饱和曲线与 Mb 相同, 成为双曲线形状, 相应地, 血红蛋白没有相互作用。Mb 的亚基最多只有一个, 因此在 1 分子中只能有 1 个血红蛋白。Hb 的 $n>1$ 时, 4 个亚基每一个都含有一个血红蛋白, 则共有 4 个, 任何一个血红蛋白都与 O_2 结合, 因此, 第 2 个、第 3 个……血红蛋白与 O_2 的亲合性增加。4 个血红蛋白与 O_2 结合的平衡常数, 增加的比例为 1:4:24:9。在与血红蛋白相结合的 O_2 分离时, 情形也是同样。Hb 在氧分压高的肺中有迅速与 O_2 结合的能力, 在氧分压低的毛细血管等处运载的 O_2 能高效率地释放出来, 是 Hb 的优异性能。换言之, 由于 Hb 的四聚体结构中各亚基间血红蛋白的相互作用, 就为 Hb 成为优良的载氧体提供了好的条件。

Hb 的氧平衡功能的第三特点是 Bohr 效应。Bohr 效应即, 当 CO_2 的分压上升, pH 值就降低, 氧分压没有变化, 氧饱和度减少, 氧的释放就容易进行。毛细血管是血液与组织之间进行物质交换的场所, 由于 Bohr 效应, CO_2 多的部位促进了反应 $O_2-Hb \rightarrow Hb + O_2$ 的进行, 形成使运输的 O_2 易于释放的环境。这里, 确实使人深深感叹生命结构的巧妙。但是, 由于 4 个血红蛋白之间的相互作用, 对于 Hb 的 Bohr 效应的研究是极其复杂的。

与氢结合导致的血红素结构变化及其影响

Ni(II)、Cu(II)、Pd(II)等的卟啉络合物中,这些金属离子位于4个吡咯氮所构成的平面内。几乎所有的铁卟啉络合物中,Fe都突出平面 $0.04\sim 0.05\text{nm}$ 。X射线分析的结果表明,Mb的Fe也与平面相距约 0.03nm ,靠近近端组氨酸*。这种现象与金属离子的大小,以及容纳它的卟啉环中的空间大小都有关系。卟啉环不是被固定在理想的平面上,而是一种有很多折皱的结构(近似平面)。

脱氧血红蛋白(deoxy Hb)的血红素铁处于2价的高自旋态($s=2$),因为半径大,所以从卟啉面中突出来靠近近端组氨酸。与 O_2 相结合的Fe(II)则变成低自旋态($s=0$),半径变小,向卟啉平面内缩回。此时,通过将近端组氨酸拉到近前,使得F螺旋起作用,F螺旋与H螺旋之间相互靠拢,位于它们之间的TyrHC2,即C端第2个Tyr的侧链向外侧伸出(参见图2-13,图2-16)。羧基等酸性基和氨基等碱性基能在亚基彼此之间发生静电相互作用($-\text{COO}^\ominus\cdots^\oplus\text{NH}_3-$),而上述TyrHC2的移位可以截断这种静电作用。详细内容可参照Perutz的论文。

正如俗语所说的“风一刮起来,桶店就高兴”*,第一个现象诱发了第二个现象,接着,第三个、第四个现象就相继发生。从脱氧Hb(deoxy-Hb)的稳定的四级结构,再排列成氧合Hb(ox-y-Hb)稳定的四级结构。以上不过是Perutz基于X射线分析的结果所推论的假说之一。这种假说颇为可信。4个亚基间的信息

* 近端组氨酸:血红素与铁配位的含咪唑基的组氨酸称为“近端组氨酸(proximal histidine)”。与此相反,在稍偏离对称点的位置上,存在的其它的组氨酸的咪唑基,这种远方的His称为远端组氨酸(distal histidine)。

* 日本是岛国。一刮大风(飓风),海水泛滥成灾,什物漂没。水退之后,遍地老鼠,咬噬家具。桶店(经营家具的商店)就会大有生意可做。因此有此俗语。——译者

传递的方式，即血红素间相互作用的具体说明是十分有趣的。

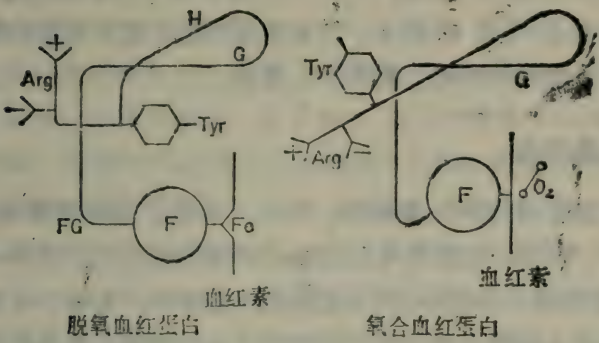


图 2-16 11b 的 α 亚基的 C 端附近的 O_2 键导致的结构变化

血红素铁与氧的结合

如前所述，血红素铁与氧的结合是 $Fe:O_2 = 1:1$ ，对其结合形式有两种说法，一为“end-on”型（竖型），一为“side-on”型（横型）（图 2-17）。

Pauling, Weiss 等提出 end-on 型，Griffith 提出 side-on 型。氧合血红蛋白的精细 X 射线分析结果，尚不能确切地分辨这种微小差异，因此不能肯定哪一种型式是正确的。但是最近研制出低分子模型络合物（参见 3.2）以后，用各种方法研究了这种结构，同时

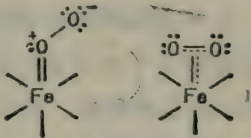


图 2-17 血红素铁与氧的结合型式

同时进行理论计算，主张“end-on”型的观点占优势。尽管是在模型络合物表现出来的 ν_{O-O} 为 1159cm^{-1} （参见 3.2），与氧合血红蛋白的 ν_{O-O} 为 1107cm^{-1} 有些差异，但这对于更进一步详细探讨血红素铁周围的构造，在方法上也许有重要意义。

前已反复论述过 Hb 与 O_2 是可逆的结合, 血红素自身也与 O_2 结合。但是, 血红素以及色素* 的自动氧化性很强, 都可与氧反应, 被迅速氧化成 Fe(III) 的状态, 即羟高铁血红素。“血红蛋白与氧是可逆的结合, 而血红素为什么是不可逆的氧化呢?” 这是个普遍性的问题, 留待 3.2 再谈。

血蓝蛋白

血蓝蛋白 (Hc) 是乌贼、章鱼、贝类、蜗牛等软体动物, 以及虾、螃蟹、螯虾等节肢动物的呼吸色素蛋白。与 Hb 不同的是, 它直接溶于血清中, 而不是存在于血球中。如表 2-6 所示, 血蓝蛋白是一种铜蛋白、分子量很大。其含铜量, 软体动物大体是 0.25%, 节肢动物为 0.17% 左右。虽然同为血蓝蛋白, 但在软体动物中的情况与节肢动物的不同。血蓝蛋白在生物体中呈浅蓝色, 若取出后暴露于空气中则变成深蓝色 (oxy-Hc)。减压并通入氮气, 除去氧, 则成为无色 (deoxy-Hc)。将血蓝蛋白在 KCN 的水溶液中透析, 去掉 Cu 离子, 就成为无色的脱铜血蓝蛋白 (Apo-Hc) (参见 2.2)。另外, 由于 H_2O_2 作用, Cu 离子被不可逆地氧化, 形成 Met-Hc。

血蓝蛋白由多个亚基组成, 适当地调整 pH 以及离子强度就会分散成较少个数亚基的组成。软体动物的血蓝蛋白, 是分子量为 50000 左右的颗粒, 恰好含有 2 个 Cu 原子, 是与 O_2 可逆结合的最小单位, 也就是仅有一个亚基即具有活性。节肢动物具有活性的最小单位的分子量为 70000 左右。

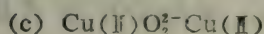
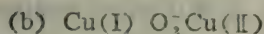
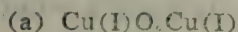
蛋白质部分的一级结构现时尚不清楚, 据报道已弄清了几个品种的氨基酸组成。它们之中, Asp 和 Glu 等二羧基氨基酸几乎占氨基酸总数的 1/4, 也含有较多个数的 His、Leu、Phe 等。

* 所谓血色素就是血红素铁的第 5、第 6 配位位置上结合吡啶、氮等含氮配位体的物质。

Trp 的数量在不同种类的生物样品中看不出差异, 大约是定值。反之, Cys 的含量因种类不同而差别甚大。

关于活性部位的 Cu 周围的情况, 有 Cus 的 SH 和 Cu 相结合的报道, 也有与此相反的报道, 故尚无明确结论。而 His 与 Cu 相结合的说法却很有说服力。例如, 有报道将 Hc 及 Apo-Hc 分别用尿素与胍进行分解后滴定, 对于 Hc, 每一个活性中心只可检出 14 个 His, 而对于 Apo-Hc 又多检出 8 个 His (共 22 个)。乙酰甘氨酸甘氨酸组氨酸铜(II) 的 CD 光谱 (圆二色光谱) 和 oxy-Hc 相似, 表明是 His 与 Cu 相结合。此外, 据报道, 来自 Trp 的荧光在 deoxy-Hc \rightarrow oxy-Hc 变化的同时, 消失了, 因而证明 Trp 与 Cu 是靠近而不是直接结合, 除 His 和 Trp 以外, 也有人认为 Tyr 位于 Cu 的配位环境。

以下就血蓝蛋白的两个 Cu 原子的氧化状态与 O_2 结合时的变化作一简单讨论。首先, 未与 O_2 结合的血蓝蛋白, 即 deoxy-Hc 是无色的并有反磁性, 也观测不到 ESR 信号。因此可以认为, 两个 Cu 原子都是 Cu(I)。其次, oxy-Hc 在可见光区有吸收 (图 2-18), 实际是蓝色的。但是几乎观测不到 Cu(II) 特有的 ESR 信号, 磁化率温度变化的测定结果也是反磁性的。由此可以设想 oxy-Hc 的 2 个 Cu 的氧化状态有以下三种可能:



(a) 中, 由于 Cu(I) 是 $3d^{10}$, 不能认为是 $d-d$ 跃迁而产生的吸收, 所以, oxy-Hc 的可见区吸收全是 CT 迁移 (电荷迁移吸收带)。(b) 的提出是基于 Cu(I) 与 Cu(II) 的混合原子价态络合物的吸收曲线与 oxy-Hc 相似 (c) 与普通的 Cu(II) 络合物相同, 通过 $d-d$ 跃迁, 可很好地说明 oxy-Hc 的可见吸收光谱。但是 oxy-Hc 的吸收强度测定为 $\epsilon = 500$, 远大于一般的 Cu(II) 络合物

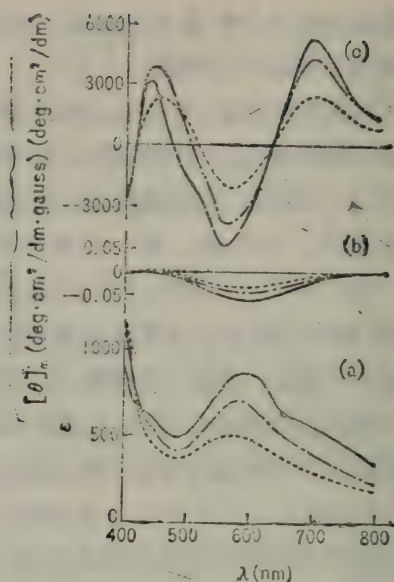


图 2-18 oxy-Hc(*Sepioteuthis lessoniana*) 的(a)吸收, (b)MCD, (c) CD光谱—77K; —198K; ---293K.

的吸收强度。所以,也不能笼统地说人们对(c)没有异议*。但是蛋白质的活性部位在多种情况下估计是对称性低的配位体场,按说禁阻跃迁也容许有某种程度的 $d-d$ 跃迁。 Cu(II) 为顺磁性,当然也可观测到 ESR 信号,但这一点也可以考虑用 2 个 Cu(II) 间的强反磁性的自旋耦合作用来说明。由蟹(*Cancer magister*) 的 oxy-Hc 的共振拉曼光谱的测定结果,氧是以 O_2^{2-} 形式结合的, (c) 的可能性很大。

由于光学活性蛋白质结合在 Cu 的周围,所以观测以邻近效应 (proximity effect) 为基础的 CD 光谱 (图 2-18) 可见区,是个有说服力的信息。软体动物与节肢动物的 CD 光谱模式完全

* 本来铜蛋白多显示在近 600nm 处有非常强烈的强吸收,长期为人们所瞩目 (参见 2.4 红氧还蛋白和铁氧还蛋白及 3.5)。

不同。著者等从室温直至液氮温度对 oxy-Hc (触脚乌贼 *sepio-teuthis lessoniana*) 测试, 其 CD 光谱可见区内显示出 430, 490, 565, 600 及 700nm 5 个吸收带。 d^9 电子构型的 Cu (II), 最多只有 4 种跃迁, 或许这是表示与 O_2 相结合的 2 个 Cu(II) 的配位环境不相同。尽管如此, 已知 Cu(II) 的配位环境是相当低的对称性场。

最近, 有报告支持血蓝蛋白的活性单位是由 2 种 Cu 所形成的观点。蜗牛的血蓝蛋白若由 NO_2^- 和 NO 氧化活性部位的 2 个 Cu 只有一个被氧化, 但改变条件, 2 个 Cu 都会被氧化。在前一种情况下, 蛋白可被羟胺还原而复原, 血蓝蛋白与氧的结合能力也得到恢复。但是也有不少的报告持与此相反的意见, 认为 2 个 Cu 是相同的。最近, 由于系统的模型络合物的光谱研究的结果, 提出了 Cu 周围的结构, 如图 2-19 所示。此结构究竟是否可信, 尚不能断定, 仍有待于今后的研究。

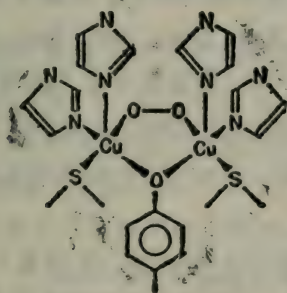


图 2-19 光谱学研究结果推导的 oxy-Hc 的 2 个 Cu 的周围结构

蚯蚓血红蛋白

蚯蚓血红蛋白 Hr (hemerythrin) 是星虫类 (*Sipunculida*)、多毛类 (*Polychaets*)、锯棘类 (*Priapulioidea*) 等海洋无脊椎动物的血球、血浆中含有的红色载氧体。分子量为 108000, 由 8

个亚基构成,每一亚基含有 113 个氨基酸残基和 2 个 Fe。亚基的一级结构如图 2-20。

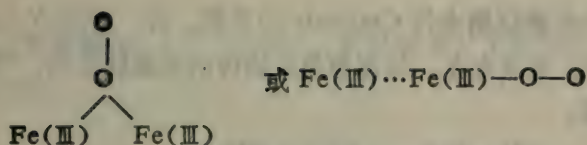
Gly-Phe-Pro-Ile-Pro-Asp-Pro-Tyr-Val-Asp-Trp-Pro-Ser-Phe-Arg-Thr-Phe-Tyr-Ser-Ile-Ile-Asp-Asp-Glu-His-Lys-Thr-Leu-Phe-Asn-Gly-Ile-Phe-His-Leu-Ala-Ile-Asp-Asp-Asn-Ala-Asp-Asn-Leu-Gly-Glu-Leu-Arg-Arg-Cys-Thr-Gly-Lys-His-Phe-Leu-Asn-Gln-Glu-Val-Leu-Met-Gln-Ala-Ser-Gln-Tyr-Gln-Phe-Tyr-Asp-Glu-His-Lys-Lys-Glu-His-Glu-Gly-Phe-Ile-His-Ala-Leu-Asp-Asn-Trp-Lys-Gly-Asp-Val-Lys-Trp-Ala-Lys-Ser-Trp-Leu-Val-Asn-His-Ile-Lys-Thr-Ile-Asp-Phe-Lys-Tyr-Lys-Gly-Lys-Ile

图 2-20 *Golfingia gouldii* (星虫类) Hr 的亚基的氨基酸排列

因为没有卟啉核,所以按理 Fe 应保持与氨基酸残基的任何一个侧链直接结合,即使一个亚基也可与 O_2 结合,但比起形成八聚体时,它与 O_2 的结合力要弱得多。从图 2-20 可以看出,Fe 的配位氨基酸是 Cys、Lys、His、Tyr、Met、Asp 和 Glu。综合其对各种试剂的反应,可以推测有 2 个 Tyr 的酚基氧和 4 个 His 的咪唑氮与 Fe 配位。最近的 X 射线分析确定,一个 Fe 是由 Tyr67, His73 和 His101 配位,另一个 Fe 是由 His25, His54 和 Tyr109 配位。

与氧的结合,即 oxy-Hr 中的 O_2 与 2 个 Fe 的关系,也同 oxy-Hc 的情况相同,可能有多样的氧化状态的组合。其中 Fe(II) O_2^{2-} -Fe(III) 的结合形式占优势。Dunn 用 Ar^+ 激光(488.0nm)进行共振拉曼散射实验,将 $^{16}O_2$ -Hr 与 $^{18}O_2$ -Hr 作一比较,确定了与 O—O 伸缩振动相对应的拉曼谱线 ($^{16}O_2$ 是 844, $^{18}O_2$ 是 $798cm^{-1}$),为过氧化物离子 O_2^{2-} 型。

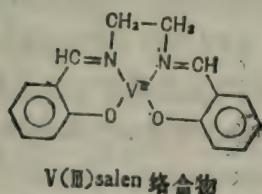
Loehr 最近以 $^{16}O_2$ 、 $^{16,18}O_2$ 、 $^{18}O_2$ 的共振拉曼研究的结果,提出了如下的结构:



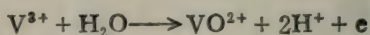
Hr 和 O_2 的平衡，其情形与 Hb 和 O_2 的平衡不同。氧饱和曲线不是 S 形的，也没有 Bohr 效应。这与以 Hr 及 Hb 作为 O_2 载体的动物的生理学条件有关。Hr 存在于海洋无脊椎动物的血球中，在体腔中浮动着，与其说运输 O_2 还不如说是贮存 O_2 。而在哺乳类的 Hb 则是具有典型的运输 O_2 的功能。Hr 对 O_2 有很强的亲和力，因而能借助其结合作用使体液内溶解的氧扩散。Hc 的 Bohr 效应相当大。据报道，由于 CO_2 的进入，使毛细血管等处的酸性仅增加 0.13pH 单位，即可释放 1/3 的存留氧。这与 Hr 的情形是鲜明的对比。

血钒蛋白

海鞘类 (Ascidia) 的血球中含钒的蛋白质，在强酸性条件下 ($1.5 \sim 2\text{NH}_2\text{SO}_4$) 能溶解 O_2 ，估计它与 O_2 有可逆的结合。Carlisle 曾提出含有 V(III) 的钒细胞在低氧分压下不可与 O_2 作可逆结合。正如 Swinehart 所指出的，N,N'-乙撑双(水杨醛亚胺)钒(III) (V(III)salen) 被分子氧氧化的过程中，生成了 O_2 加成产物 (参见 3.2)，所以，V(III)salen 是海鞘类体内含 V 载体的模型，



但没有确切的实验证据支持 Carlisle 的见解。另一方面, V 是以 V(Ⅲ) 或 V(Ⅳ) 形式存在, 与海鞘类生物体内的酸性之间, 可能有相关的联系。



由上式可见, 在 V(Ⅲ) 与 V(Ⅳ) 变化的同时, 产生了 H^+ 。推测是这样的机理, 但是又不能如此简单地肯定它, 因为 V 与氧并不都是存在于同一个细胞内, *Phallusia mammilata* 等一类海鞘就有不含 V 而含有氧的细胞。这是留待今后研究的课题。

2.4 铁蛋白与铜蛋白的结构和功能

众所周知, 含铁的蛋白质有细胞色素、铁氧还蛋白、过氧化氢酶等, 含铜的蛋白质有质体蓝素、酪氨酸酶、单胺氧化酶等, 并且已知还有同时含铁和铜的细胞色素 a 、细胞色素 a_3 。这些金属蛋白大多具有作为生物体氧化反应催化剂的重要作用, 金属离子直接参与了 Fe(II)/Fe(III) 、 Cu(I)/Cu(II) 型电子的传递。此外, 已在 2.1 叙述过的铁传递蛋白、血浆铜蓝蛋白能够作为 Fe 及 Cu 的载体, 这里以 Fe、Cu 的重要作用——氧化还原反应为中心, 讨论铁蛋白与铜蛋白的结构和功能。

生物体的能量代谢

为了维持生物体的生命, 必须进行各种物质代谢。代谢过程是井然有序的。它包括两个方面, 不仅可以将大分子分解为小分子, 释放的自由能以 ATP 的形式贮存起来 (分解代谢 catabolism), 而且还能利用 ATP 的能量将小分子高度有序地合成大分子 (合成代谢 anabolism)。前者称为异化作用 (dissimilation), 后者称为同化作用 (assimilation) 从食物中摄取的蛋白质、脂类、多糖类在好氧性条件下如图 2-21 那样, 分别分解成小分子,

经过三羧循环* (TCA cycle)，最终被氧分子所氧化的过程为能量代谢。

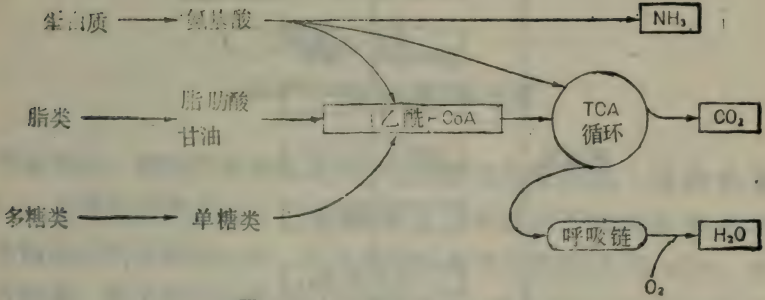


图 2-21 分解代谢的途径

在生物的物质代谢的许多阶段，都与含铁或含铜的蛋白质的氧化还原反应有关。作为细胞色素蛋白及光合成体系一个成员的质体蓝素或铁氧还蛋白等就是一个实例。因此，为了理解这些蛋白质怎样参与电子传递，首先要看一看能量代谢的最终阶段的电子传递途径 (electron transport pathway)，也称呼吸链 (respiratory chain)。呼吸链就是从接受了氢原子对 (或电子对) 的 NAD^+ (氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 Nicotinamide adenine-dinucleotide 即辅酶 I) 变成 NADH (参见细胞色素一节)，再被非血红素铁蛋白 NADH 脱氢酶催化氧化的过程开始，直到细胞色素 a_3 将氢原子交给氧的电子传递途径 (图 2-22)。

* 三羧循环 (Tricarboxylic Acid Cycle)，或是 Krebs 三羧酸循环，即所谓柠檬酸循环。由乙酰 CoA 与草酰乙酸结合反应生成柠檬酸开始，异柠檬酸 + CO_2 → α -酮戊二酸 → CO_2 → 琥珀酸 → 延胡索酸 → 苹果酸 → 草酰乙酸。这样不断地循环进行。该过程中放出的 4 对氢原子 (或电子) 加入电子传递体系 (呼吸链，参照细胞色素一节)，在氧化磷酸化生成 ATP 的过程中电子向氧分子转移，氧分子与 4 个氢结合成水。

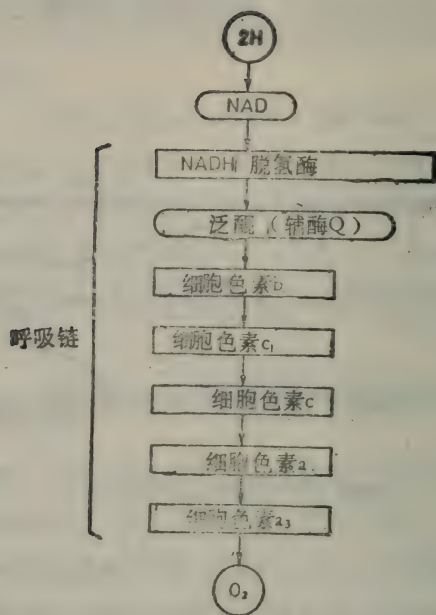
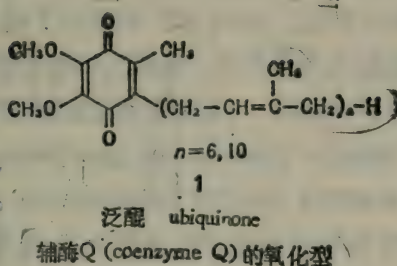


图 2-22 呼吸链的电子传递途径 (在方框中的均为铁或铜蛋白质)

该系统位于细胞线粒体的内膜上，在线粒体的内部（即间质 matrix）由 TCA 循环及其它酶反应所产生的氢原子对（或电子对）都汇入此途径。这里，NADH 脱氢酶 β 是以 FMN (flavin mononucleotide 黄素单核苷酸) 作为辅酶的非血红素铁蛋白，分子量 78000，每一分子中含有 4 个 Fe。非血红素蛋白在其它的细胞色素 b、 c_1 中也都存在。还有能将琥珀酸里的氢原子传递给辅酶 Q (coenzyme Q) 的琥珀酸脱氢酶，分子量为 100000，1 分子中含有 2 个 Fe，是非血红素铁蛋白，是以 FAD (flavin adenine dinucleotide 黄素腺嘌呤二核苷酸) 作为辅酶。辅酶 Q 是如结构式 1 的苯醌，存在于微生物中的是 $n=6$ ，存在于哺乳类中的大多为 $n=10$ 。



与此相反，细胞色素类都是带有血红素核的蛋白质，细胞色素 a, a_3 含有相同摩尔数的 Cu。图 2-23 表示氢原子由能量高的状态向低的状态顺次传递，在自由能落差大的部位生成 ATP，贮存能量。电子的传递偶联 (coupling)，由 ADP 与 P_i (无机磷酸) 生成 ATP 的反应机理是很复杂的，最近已逐渐查明，要知道详细内容可参阅有关论著。

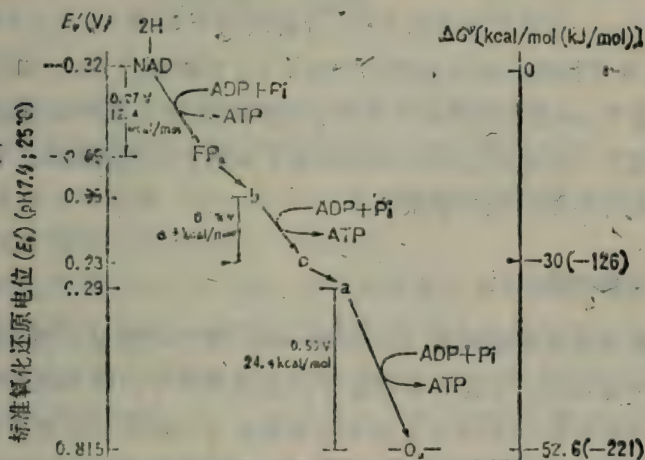


图 2-23 在呼吸链上由于电子传递而产生的自由能减少和 ATP 的生成

FP_D: NADH 脱氢酶 (黄素蛋白, flavoprotein)

b, c, a: 各种细胞色素

P_i: 无机磷酸

一方面,绿色植物叶绿体(chloroplast)的光合作用需要的电子传递系有两个阶段,(i)在 M_2^+ 的存在下将水分解生成 O_2 , 所产生的电子通过光化学系 II, 借助太阳能的激发而合成 ATP, 光化学系 I 再度将 $NADP^+$ (氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, 即辅酶 II) 激发变成还原型 NADPH (光反应 lightreaction)。(ii) 与此相反, ATP 和 NADPH 的化学能将 CO_2 还原合成为葡萄糖(暗反应 dark reaction)。尽管详细的途径尚未弄清楚,但细胞色素 b_3 、f, 以及铜蛋白的质体蓝素参与了从光化学系 II 到 I 的路径, 铁氧还蛋白参与了从光化学系 I 到 $NADP^+$ 的途径,它们在电子传递进行时很重要。

从以上情况来看,在生物体中的电子传递方面,铁或铜蛋白都有着不可缺少的作用。当然,铁、铜蛋白质并非仅仅参与上述电子传递,它们还具有多种功能,如,氧的运输(参见 2.3); 血红蛋白——过氧化氢酶将 H_2O_2 分解成为 H_2O 和 O_2 含有 Cu、Zn 的超氧化物歧化酶将超氧化物离子 O_2^- 分解成为 H_2O_2 和 O_2 ; 细胞色素 P450 进行羟基化; 等等。它们都发挥了多种功能,在多数情况下,从本质上可以说均参与了有电子传递的反应。下面从介绍几种典型的铁或铜蛋白质。

细胞色素

前已述及细胞色素(cytochrome)参与呼吸链、光合成等电子传递过程,但是它仅存在于好氧性细胞中。除细胞色素 c 外,呼吸链中的各种细胞色素都与线粒体内膜牢固结合。细胞色素 P450 与 b_5 则是存在于细胞器(微粒体 microsome)中。细胞色素含有血红素核,根据其取代基种类的不同,分为 a、b、c 型(见结构式 2、3)等。还原型 $[Fe(II)]$ 型细胞色素中,根据血红素的不同,通常表现出 α 、 β 、 γ 三个特征性吸收峰,

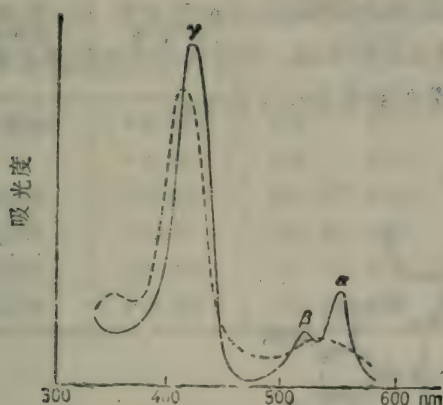


图 2-24 细胞色素 c 的吸收光谱 (示相对吸收强度)

——还原型 氧化型

波长最短的 γ 吸收带称为 Soret 吸收带 (图 2-24)。

可以认为细胞色素 a 与 a_3 形成复合体, 称为细胞色素 aa_3 或称为细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase), 其 β 吸收带还不清楚。几种细胞色素的性质列于表 2-7。

细胞色素中血红素与蛋白质的结合是由细胞色素 c 的 2.5 个半胱氨酸残基的 SH 以硫醚键形成的, 细胞色素 a、b 与血红蛋白一样, 通过非共价键作用所形成的。迄今研究得最好的且已查清其晶体结构的是细胞色素 c。对从马的心肌中得到的氧化型细胞色素 c 的 X 射线分析 (分辨率 0.28nm), 得到了用血红素填充的结构式, 如图 2-25 所示。如图可见, 细胞色素 c 与血红蛋白、肌红蛋白等有所不同, 血红素 Fe 的第 5、6 配位位置被组氨酸 (His18) 的咪唑基的 N 及蛋氨酸 (Met 80) 的 S 占据。由于它采

取了这种配位形式，因而不显现与 O_2 、 CO 、 CN^- 的反应性。从金枪鱼心肌得到的细胞色素 c 蛋白和血红素核的结合情况与马的相同，其还原型的结构通过 X 射线分析（分辨率 0.245nm），与图 2-25 的氧化型相比较，可以看出在血红素近旁的裂缝处和分子的右侧部分的结构发生了改变。

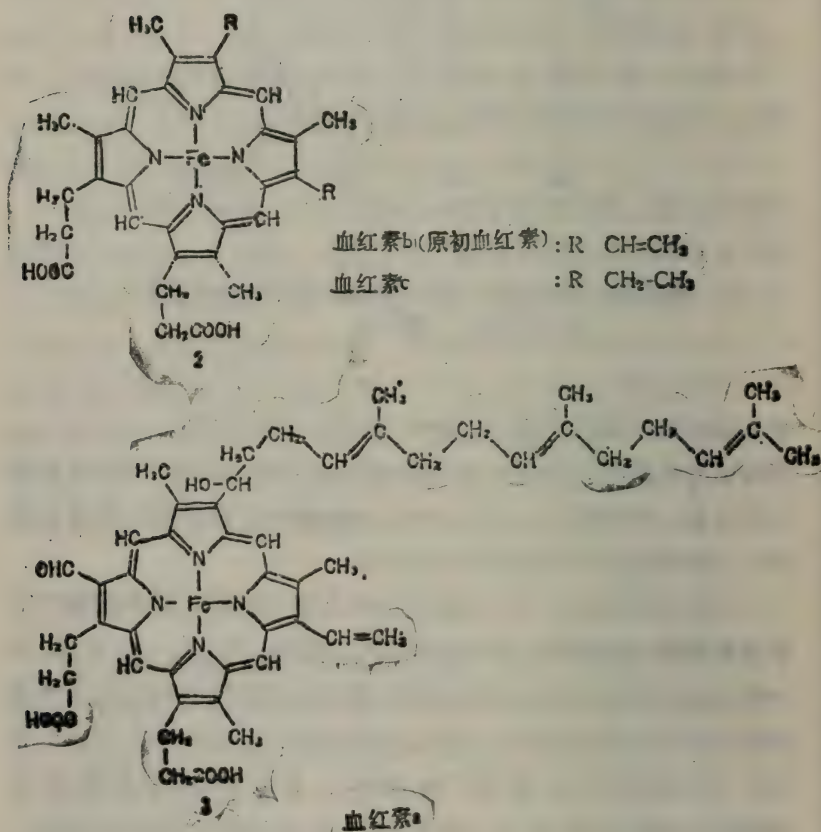
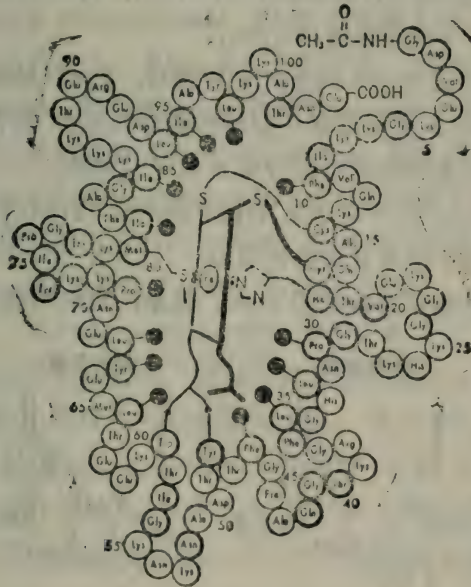


表 2-7

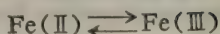
细胞色素的性质

细胞色素	分子量	$E'_0(V)$	还原型的 λ_{max} (nm)			存在部位
			α	β	γ	
a	200000	+0.210	600	439	}	线粒体
a ₃		+0.385	604	443		
b	25000	+0.030	563	532	429	线粒体
b ₃	25000	+0.02	556	526	423	微粒体
c ₁	37000	+0.220	554	524	418	线粒体
c	12500	+0.254	550	521	415	线粒体



■ 2-25 马心肌的氧化型细胞色素c的血红素核的结构式
从酪氨酸 48 与色氨酸 59 出发的箭头表示血红素的丙酮基
氢键 (R.E.Dickerson, T.Takano, D.Eisenberg, O.B.
Kallai, L.Samson, A.Coope, E.Margoliash, *J. Biol. Ch-*
em., Vol.246, 1511(1971))

细胞色素的氧化还原反应是：



反应中，氢原子并不迁移而是由电子迁移。细胞色素 b、c 中的 Fe 还原型和氧化型都是低自旋型电子构型。从细胞色素 c 的还原型与氧化型的结构来观察，其中之一的反应 $\text{Fe(III)} \longrightarrow \text{Fe(II)}$ 的电子迁移过程如下所述。

对于氧化型而言，Tyr74 和 Trp59 的芳香环面相互平行，Tyr67 与血红素核有相当程度的平行平面；相反，在还原型中，Trp59 与 Tyr67 大体上平行，Tyr74 则与血红素核分离。这里的过程为：

(i) 从还原酶 (reductase) 到 Tyr74，再经 Trp59 的 π 电子云重叠，将 1 个电子传递给 Tyr67。

(ii) 电子从 Tyr67 向血红素核迁移，Tyr67 呈缺电子状态。

(iii) 构型的变化使氧化型结构改变为还原型结构，Trp59 与 Tyr67 的芳香环面平行时导致 π 电子云重叠。

(iv) 此后，1 个电子从 Trp59 传递到 Tyr67，Tyr67 即恢复为电中性，整个分子就成为还原型

这种模式画出来就如图 2-26，但是，以后将提及这种模式

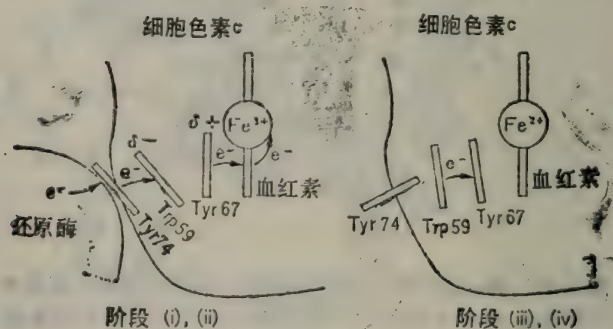


图 2-26 细胞色素 c 的电子迁移模式 (T. Takano, J. Biol. Chem. Vol. 248, 5234 (1973))

与事实并不相符。关于电子转移还提出过其它的设想，现在都还无定论。

细胞色素 a 与 a_3 位于呼吸链的末端， O_2 的氧化力使细胞色素 c 被氧化。 a 、 a_3 都是每一分子含有一原子的 Cu ，约半数的 Cu 不能用 ESR 检出， O_2 进入细胞色素 aa_3 的扩散速度为 1×10^8 摩尔/(升·秒)， a_3 及 a 的氧化的一级反应速度常数为 3×10^4 /秒和 7×10^2 /秒。 Cu 在电子迁移中的作用还不清楚。细胞色素 a_3 能与 CO 结合， CN^- 、 N_3^- 也使它中毒。已经证实 a_3 与 O_2 的反应性同 Cu 的电子传递有关。

另一方面，除上述呼吸链外，在细胞的微粒体部分还有与膜相结合的非磷酸化反应（ATP 的合成）的电子传递系统，该系统包括含有血红素 b (protoheme) 的细胞色素 P450（常简称为 P450）以及细胞色素 b_5 。P450 具有下列作用：参与合成甾体激素，用作某些药物（苯巴比妥、可待因等，以及环境污染物……）进行羟化反应的加单氧酶（monooxygenase）。羟化具有对药物解毒或是发现毒物的作用。这在药理学上有重要的意义。细胞色素 b_5 可用作脂肪酸脱氢反应的电子传递。设该反应的底物为 S ，电子供体是 AH_2 ， SO 为反应生成物，其反应式为：



脂肪酸的脱氢没有多结合氧，可以设想是在生成中间体羟基酸后发生了脱氢反应，同样也可称作加氧反应。生成 SO 的电子传递过程，是由 NADPH 开始，在称为 NADPH-细胞色素 P450 还原酶的黄素蛋白质参与下，最终形成了 P450 和 O_2 。含有细胞色素 b_5 的那一系统也同样通过 NADH-细胞色素 b_5 还原酶，进行电子传递。

P450 正如它的名称那样，它与 CO 相结合时，与其它细胞色素不同，显示在 450nm 处有一 Soret 吸收带。若加进药物，根据药物的种类不同，生成不同的 P450。例如，加入苯巴比妥，

4

The diagram illustrates the P450 catalytic cycle. It starts with $P450(Fe^{3+})$, which binds substrate S to form $P450(Fe^{3+})-S$. This complex is reduced by an electron (e^-) to $P450(Fe^{2+})-S$. The $P450(Fe^{2+})-S$ complex binds O_2 to form $P450(Fe^{2+})-S-O_2$, which is then reduced by another electron (e^-) to $P450(Fe^{2+})-S-O_2^-$. This intermediate is protonated by $2H^+$ to form $P450(Fe^{2+})-S-O_2H$, which then releases H_2O to form $P450(Fe^{3+})-S-O$. The $P450(Fe^{3+})-S-O$ complex is reduced by an electron (e^-) to $P450(Fe^{2+})-S-O$, which then releases SO to form $P450(Fe^{2+})$. Finally, $P450(Fe^{2+})$ is oxidized back to $P450(Fe^{3+})$ by releasing an electron (e^-).

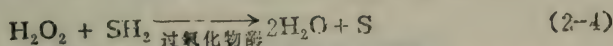
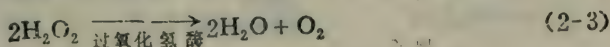
• 80 •

但这仅是设想而已。

P450 与底物和氧的反应途径大致如图 2-27 所示。

过氧化氢酶

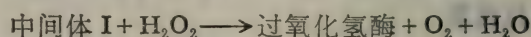
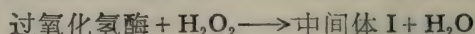
以 FMN 或 FAD 作为辅酶的氧化酶，如还原型 L-氨基酸氧化酶、黄嘌呤氧化酶被 O_2 氧化后，生成过氧化物 O_2^{2-} 。 O_2^{2-} 和超氧化物 O_2^- 等 O_2 的氧化产物都是细胞毒物。所以，生物体针对它有一系列防御机构，能够将游离的 O_2^{2-} 、 O_2^- 迅速分解，用于其它的氧化反应中，从而被消除掉。 O_2^{2-} 通过过氧化氢酶(catalase) 以及以后将介绍的超氧化物歧化酶(super oxide dismutase) 的催化作用， O_2^- 通过过氧化物酶(peroxidase) 的催化作用，发生如下的反应(以 H_2O_2 为例)：



由上列二式看出，若 (2-4) 式的底物为 SH_2 ，则 (2-3) 式反应的底物为 H_2O_2 自身，而成为 (2-4) 式的特例，因此可以说过氧化氢酶是过氧化物酶的一种特殊品种。在伤口上涂抹双氧水 ($3\% H_2O_2$) 时，有明显的泡沫逸出，就是 (2-3) 式反应的表现。过氧化氢酶在各组织中具有使 O_2^{2-} 变为无毒的作用。相反，有时利用 O_2^{2-} 的毒害作用，以防止细菌感染，如白细胞吞噬细菌后生成 O_2^{2-} 、 O_2^- ，杀死细菌。

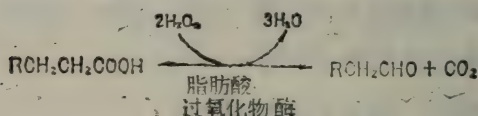
过氧化氢酶的分子量为 240000~250000，每一个分子含有 4 个血红素。血红素中的铁呈稳定的 $Fe(III)$ 状态，通过磁化率和其它方法测定表明，它是高自旋型的。该 $Fe(III)$ 型血红素只有在变性的情况下，才被连二亚硫酸 $H_2S_2O_4$ 还原为 $Fe(II)$ 型血红素。尽管对血红素的轴配位体进行了各种研究，第 5 配位位置上是有咪唑核还是有羧基，至今仍未弄清楚。其余的配位位置为

水分子所占据。过氧化氢酶与 H_2O_2 反应使 Soret 吸收带的吸光度减弱，首先是因为形成了中间体 I，中间体再与 H_2O_2 起反应：



过氧化氢酶的反应是双电子反应，在中间体 I 形成时的原子价表现为 5 价。

大部分过氧化物酶与过氧化氢酶相同，也是含有血红素的血红素蛋白，例如脂肪酸过氧化物酶。它在 H_2O_2 存在下对脂肪酸进行 α -氧化。



红氧还蛋白和铁氧还蛋白

含铁的蛋白质有的并不含有卟啉核。它们即非血红素铁蛋白 (non-heme iron protein) (参见 2.4 生物体的能量代谢一节)。其中的铁-硫蛋白 (iron-sulfur protein) 尤为重要。它的 Fe 与蛋白质的结合全部借助于半胱氨酸的 S，多数情形含有等摩尔的 Fe 与无机硫* (inorganic sulfur)。铁-硫蛋白包括由分子量约 6000~20000 的小分子蛋白质，以至分子量为 280000 左右的蛋白质 (如醛氧化酶、黄嘌呤氧化酶)。它们的氧化还原电位 (E'_0) 由 -0.49 至 +0.28V 范围内大幅度变化。铁-硫蛋白是下列反应的催化剂：光合成，脂肪酸的 ω 羟化， N_2 的固定，呼吸链的电子传递，甾体化合物的羟化等。按照不同的活性中心，铁-硫蛋

* 由酸与 H_2S 作用而产生的硫称为不稳定硫 (labile sulfur)。

白可分为以下三类：

- (1) $\text{Fe}(\text{S}-\text{Cys})_4$ 型（红氧还蛋白）
- (2) $\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{S}-\text{Cys})_4$ 型（植物铁氧还蛋白等）
- (3) $\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S}-\text{Cys})_4$ 型（微生物铁氧还蛋白等）

这三种铁-硫蛋白的结构如图 2-28。表 2-8 列出多种铁-硫蛋白的性质。

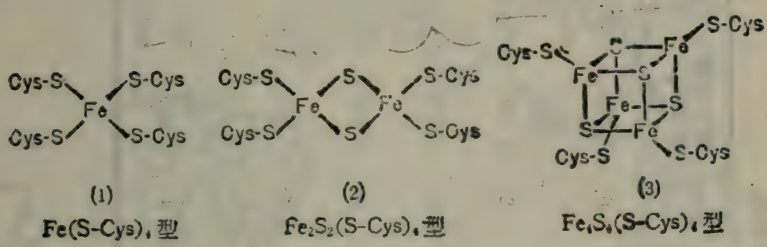


图 2-28 铁-硫蛋白的活性部位结构模式

红氧还蛋白（rubredoxin）呈红色，如上所述，蛋白质的 4 个半胱氨酸的 SH 基与 Fe 结合，不含无机硫，这点与铁氧还蛋白不同。红氧还蛋白通常多见于细菌，参与在脂肪酸的 ω 位或碳氢化合物的末端上导入羟基的反应。当存在 O_2 时， ω 羟化酶、红氧还蛋白、NADH 红氧还蛋白氧化酶进行如下的羟化反应：

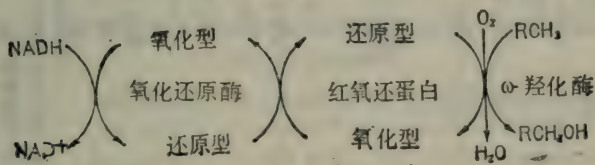


表 2-8

铁-硫蛋白的各种性质

活性中心 类 型	蛋白质 (存在部位)	氧化 状态	分子量	Fe/ 分子	S ²⁻ / 分子	氧化还原 电位E _{0'} (V)	最大吸收波 长(nm) ϵ
Fe(S-Cys) ₄	红氧还蛋白 (Clostridium) ^{a)}	氧化型 还原型	6000	1	0	-0.060	390(10800); 490(880) 311(10800); 333(6300)
FeS ₂ (S-Cys) ₄	2Fe铁氧还蛋白 (菠菜) 肾上腺皮质铁氧还 蛋白	氧化型	12000	2	2	-0.420	330(12000); 420(9400); 465(8900)
	(肾上腺)	氧化型	12500	2	2	-0.270	325(5000); 415(10000); 455(9600)
Fe ₄ S ₄ (S-Cys) ₄	4Fe铁氧还蛋白 (Bacillus) ^{b)}	氧化型	8000	4	4	-0.380	460(1600)
	8Fe铁氧还蛋白 (Clostridium) ^{a)}	氧化型	6000	8	8	-0.395	400(1600); 430(26400)
	离电位铁硫蛋白 (4Fe) (Chromatium) ^{c)}	氧化型 还原型	9650	4	4	+0.350	325(12000); 385(15000); 450(9200) 388(12000)

a) 厌气性细菌

b) 杆菌

c) 光合细菌

红氧还蛋白 ESR 的 g 值约为 4.3, 氧化型 $[\text{Fe}(\text{III})]$ 、还原型 $[\text{Fe}(\text{II})]$ 都是高自旋型。用属于厌氧性细菌的巴氏梭菌 (*Clostridium pasteurianum*) 的结晶进行 X 射线分析, 判断其结构如图 2-29 所示。

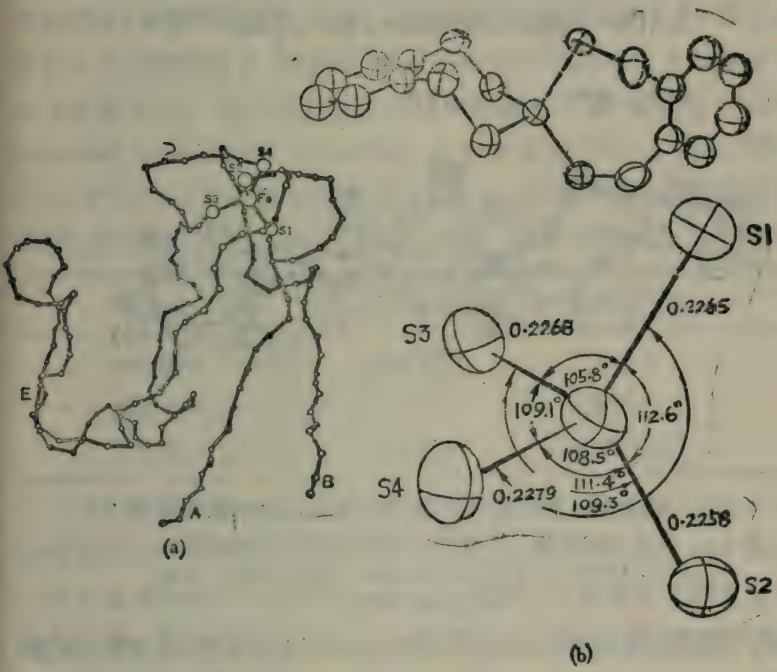


图 2-29 红氧还蛋白与活性中心模型络合物 $[\text{Fe}(\text{o}-(\text{SCH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4)_2]^-$ 的结构

(a) *Clostridium pasteurianum* 红氧还蛋白的肽键 (分辨率 0.25nm) (J. R. Herriott, I. C. Sieker, I. H. Gensen, *J. Mol. Biol.*, Vol. 50, 390 (1970)),
 (b) $[\text{Fe}(\text{o}-(\text{SCH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4)_2]^-$ (R. W. Lane, J. A. Ibers, R. B. Frankel, R. H. Holm, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 72, 2868 (1975))

颇为有趣的是，它的结构和各种性质与人工合成的模型化合物 $[\text{Fe}(\text{o}-(\text{SCH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4)_2]^{2-}$ 的很一致。

含有 2 原子铁的铁-硫蛋白——2Fe 铁氧还蛋白 (ferredoxin) 称为双核铁氧还蛋白，其氧化型呈红色至橙褐色。每一个 Fe 原子与一个原子的无机硫结合。在叶绿体中所含的 2Fe 铁氧还蛋白是光合成电子传递系的一员，参与如下的反应：

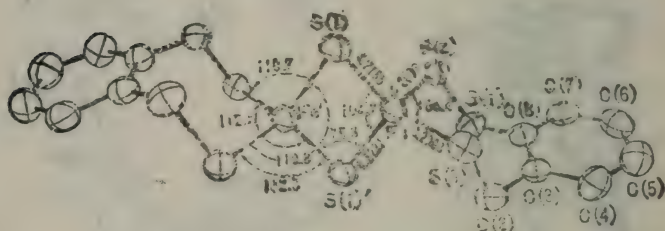
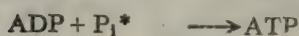
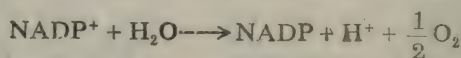


图 2-30 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{o}-(\text{SCH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4)_2]^{2-}$ 的结构
(J. J. Mayerle, S. E. Denark, B. V. DePamphilis,
J. A. Ibers, R. H. Holm, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol.
97, 1032 (1975))

此外，在肾上腺皮质及线粒体中存在的其它双核铁-硫蛋白称为（肾上腺）皮质铁氧还蛋白 (adrenodoxin)，在留体化合物、樟脑的羟化中起催化剂作用。2Fe 铁氧还蛋白、皮质铁氧还蛋白不能做 X 射线结晶分析，从合成的模型化合物 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{o}-(\text{SCH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4)_2]^{2-}$ (图 2-30) 的电子光谱 ($\lambda_{\text{max}} (\text{nm}) = 338; 414; 455; 590$)、磁化率、Mössbauer 谱等数据，可以得出这样的结论，

• P_i 为无机磷酸 (Inorganic phosphoric acid)。

即天然的活性中心也和模型化合物一样，都是复数核结构。还原型都是高自旋型的 Fe(II) 与 Fe(III) ，呈反磁性相互作用；其氧化型也是高自旋型的 2 个 Fe(II) ，在低温下是自旋-自旋间的相互作用，前者是顺磁性，后者是反磁性。

4Fe 铁氧还蛋白的稀溶液呈黄绿色，浓溶液呈黑褐色。与菠菜的 2Fe 铁氧还蛋白一样，它的还原型有分离的 3 个 ESRg 值，显示出 Fe 周围的对称性稍差。这种蛋白的特征是 4 个 Fe 原子结合有 4 个无机硫原子，这种铁-硫蛋白的氧化还原电位有高和低之分（见表 2-8），氧化还原电位高的称为**高电位铁-硫蛋白**（high-potential iron-sulfur protein）。4Fe 铁氧还蛋白 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S-Cys})_4]^{n-}$ 的 $n=2, 3$ ，高电位型的 $n=1, 2$ 。两者的结构同模型络合物 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SR})_4]^{2-}$ 很相似（见图 2-3(b)）。Fe 的氧化状态如下表：

Fe 的化合价态	高电位铁-硫蛋白	铁氧还蛋白
$3\text{Fe(II)} + 1\text{Fe(III)}$	(超还原型)	还原型
$2\text{Fe(II)} + 2\text{Fe(III)}$	还原型	氧化型
$1\text{Fe(II)} + 3\text{Fe(III)}$	氧化型	(超氧化型)

8Fe 铁氧还蛋白是从巴氏梭菌 (*Clostridium pasteurianum*) 中得到的第一个铁氧还蛋白，含有两个相接近的 4Fe—4S 部分（原子簇 cluster）（见图 2-3(a)）。这些原子簇被疏水的氨基酸残基包围，因而隔绝了亲核性试剂及溶剂，肽链内的酪氨酸侧链的苯环相距 0.35~0.40nm，平行排列着，形成 Fe_2S_2 的一个面。苯环的边缘在溶剂中暴露，成为电子传递的通道。在细菌中能見到铁氧还蛋白，如固氮酶（参见 3.3）中，它具有还原作用。高电位铁-硫蛋白存在于光合细菌 (*Chromatium*) 中，参与光合成的电子传递。此外，8Fe 铁氧还蛋白在牛奶或细菌中的黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase) 中存在的，含有 Mo、FAD；在哺乳类动物线粒体的 NADH 脱氢酶中的，含有 FMN，在各种氧化反

应中均有作用。

质体蓝素

已经提到的生物体中的铜离子，是构成电子传递、加氧（加氧酶的作用）、运输氧等作用的活性中心的重要金属离子。其含量在生物体内仅次于 Fe、Zn，也是很多的。

铜蛋白质中的 Cu，按其光谱学和磁学性质，通常分为以下三种：

(1) 第一类铜（蓝铜）

含有第一类铜 Cu(II) 的蛋白质，正如它的名称“蓝铜”所表明的，在 600nm 附近有非常强的吸收光谱，其摩尔消光系数 ϵ 达 10^3 数量级，比普通小分子铜(II) 络合物的 ϵ 大 10 倍以上。Cu(II) 的存在可以由 ESR 谱检出，其超精细分裂常数* 极小 ($|A_1| = 0.0031 \sim 0.0090 \text{cm}^{-1}$)，并具有离氧化还原电位 ($E'_0 = 0.2 \sim 0.8 \text{V}$)。

(2) 第二类铜（非蓝铜）

第二类铜在 600nm 附近不显示吸收光谱。含这种铜的蛋白质因此不是蓝色的。在通常的蛋白质浓度时，看不见可见光区的光谱吸收，ESR 参数与一般的铜(II) 络合物相近，为 $|A_1| = 0.014 \sim 0.020 \text{cm}^{-1}$ 。像漆酶 (laccase) 那种含有蓝铜的氧化酶也都含有第二类铜。

(3) 第三类铜（ESR 不能检出铜）

在血蓝蛋白里有这种类型的铜，得不到 ESR 光谱，因此称它为“ESR 不能检出铜”。Cu 处于 Cu(I) 状态或者 2 个 Cu(II) 成对，则其反强磁性自旋—自旋相互作用的可能性最大。氧合血蓝蛋白（参见 2.3）、抗坏血酸氧化酶 (ascorbate oxidase) 等

* hyperfine splitting constant. —译者

可能存在 $\text{Cu(II)} - \text{Cu(II)}$ 间的相互作用。

表 2-9 汇总了各种铜蛋白的性质。质体蓝素的分子量为 10500，由一个铜原子和一条多肽链构成，是含有第一类铜的一种蛋白质。这种蛋白质存在于植物的叶绿体内，是光合作用的电子传递途径中的重要成员，即它担任的重要任务是，由光化学系 II 接受电子，再由光化学系 I 传给色素 P700*，要求有较高的氧化还原电位。从菠菜中得到的质体蓝素具有蓝铜蛋白质的特征，即可见光区的强吸收光谱位于 597nm ($\epsilon = 9800$) (见表 2-9)，氧化还原电位 E' 为 0.37~0.39V。

为研究蓝铜蛋白的配位结构，有许多模型化合物 (参见 3.5)，并由有关蛋白质自身的研究中得出不少结论。最近从白杨叶中得到的质体蓝素，经 X 射线结构分析，它的特异的配位环境已经阐明。图 2-32 表示其多肽链和 Cu 的位置，以及 Cu 的配位结构。由图可见，Cu 与 His 37 及 His 87 的咪唑 N，以及 Cys84 及 Met 92 的 S 相结合，形成畸变四面体配位结构。在氧化还原反应进行时，平面的变形，或正四面体的畸变，都会使活化能降低，同时升高氧化还原电位。上述配位原子为 $(\text{N})_2(\text{S})_2$ ，它们对相互转移电子的 Cu(II) 、 Cu(I) 来说，都是高亲和性的原子，这是自然的巧妙选择。关于蓝铜蛋白的天青精蛋白的结构分析也已完成，判定其活性中心的结构与质体蓝素相同。配位体的组合可用 HSAB 规则 (参见 1.2) 说明， Cu(II) 是中等硬度的路易斯酸，亲咪唑，而 Cu(I) 属于软的路易斯酸，亲巯基的 S (软的碱)， $(\text{N})_2(\text{S})_2$ 型配位对两种情形均适宜。图 2-32 所示的结构表明 Cu 存在于表面附近，在其周围没有羧基等那类带有负电荷的基团，因而不妨碍其电子传递。细胞色素 f 由外部接近，进行电子传递。从外层结构与量子力学的隧道效应角度讲，电子传递是

* 色素 P700 (Pigment 700) 即在 700nm 附近显示最大吸收的一种特殊状态的叶绿素。

表 2-9

铜蛋白的性质

铜 蛋 白	分子量	铜 (原子/摩尔)		λ_{\max} (nm)	ϵ (mol ⁻¹ cm ⁻¹)	功 能
		第1类 第2类 第3类	合计			
质体蓝素	10500	1	1	597	9800	光合作用的电子传递
繁缕花青素	20000	1	1	604	3800	电子传递
天青精蛋白	14000	1	1	630	3000	电子传递
血浆铜蓝蛋白	140000	2	2	610	11000	运输铜、铁的氧化酶
漆酶 (圆猪苓)	62000	1	1	610	4600	二胺、二酚等的氧化
	110000			614	5200	
抗坏血酸氧化酶	140000	2	2	607	9700	抗坏血酸的氧化
酪氨酸酶	120000		4	4		形成黑色素
半乳糖氧化酶	68000	1	1			半乳糖的氧化
多巴胺 β -羟化酶	290000	4~8	4~8			合成去甲肾上腺素
尿酸酶	120000	$\leftarrow 1(?) \rightarrow 1$				尿酸的氧化
二胺氧化酶	190000	2(?)	2			胺的氧化
血蓝蛋白 (运输 O ₂ 的亚基)	50000	2	2			运输氧
细胞色素 c 氧化酶 (即细胞色素 aa ₃)	200000	$\leftarrow 1 \rightarrow$	1			氧化磷酸化时的电子传递
超氧化物歧化酶	32000	2	2	680	300	将 O ₂ ⁻ 分解成 O ₂

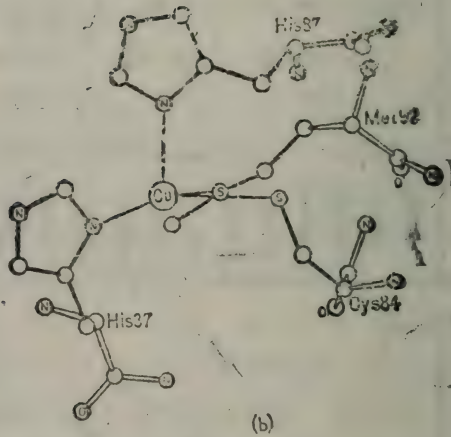


图 2-32 质体蓝素的结构 (P. A. Colman, H. C. Freeman, J. M. Guss, M. Murata, V. A. Norris, J. A. M. Ramshaw, M. P. Venkatappa, *Nature*, Vol. 272, 319 (1978))

(a) 多肽链与 Cu 的位置 (圆圈示 α 碳位置)

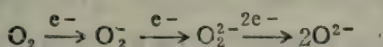
(b) Cu 的配位结构

可能的。质体蓝素的反应及其结构还有待于今后的研究。

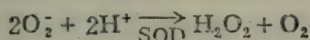
蓝铜蛋白的结构、光谱性质的类似性可参见 3.5 介绍的模型络合物。

超氧化物歧化酶

生物在利用 O_2 的过程中，生成了对细胞有毒性的 O_2^- 、 O_2^{2-} 。为此，如前所述，生物通过过氧化氢酶和超氧化物歧化酶 (super oxide dismutase) (SOD) 将 O_2 的还原产物变成 H_2O 以消除毒性。好氧性生物具有这种能力是理所当然的，但是在地球上蓄积 O_2 之前出现的厌氧性生物也有 SOD，又是什么原因？原来这是为了防御水被光分解生成的 O_2 。 O_2 被还原时有如下的变化：



毒性的强度： $O^- > O_2^- > O_2^{2-}$ ，SOD 在反应中能将 O_2^- 转变为 O_2^{2-} 和 O_2 。



此处产生的 H_2O_2 进一步经过氧化氢酶的作用，分解为 H_2O 和 O_2 。SOD 广泛地存在于生物界，包含在高等动物的红血球、线粒体中。改变 O_2 分压来饲养大白鼠，细胞质中的 SOD 含量则受 O_2 分压的影响，成比例地作相应的变化，这就说明 SOD 在 O_2 的利用上是不可缺少的。能生成 O_2^- 的体系存在于叶绿体、线粒体，这就是血红蛋白，黄嘌呤氧化酶、过氧化物酶、铁氧还蛋白、FMN 等多种酶、蛋白质、小分子化合物能够发挥作用的原因。

此外，已知有各种的 SOD，其中有含有 Cu 与 Zn 的 Cu-Zn SOD，含 Mn 的 MnSOD，以及含 Fe 的 FeSOD。Cu-ZnSOD 对 CN^- 敏感，MnSOD 及 FeSOD 则不受 CN^- 的影响。以前认为前者在真核生物 (eukaryote) 中存在，后者在原核生物 (prokaryote) 中存在，但未必如此。表 2-10 列出几种 SOD 的存在部位与性质。

表 2-10 超氧化物歧化酶 (SOD) 的种类与性质

种类	存在部位	金属含量 (原子/摩尔)	分子量	亚基
Ca-ZnSOD	哺乳动物的组织,	2Cu 2Zn	32000	α_2
	酵母, 绿色植物等			
	<i>Photobacterium leiognathi</i> ^{a)}	1Cu 2Zn	33100	$\alpha\beta$
MnSOD	<i>Escherichia coli</i> ^{b)}	1.4Mn	39500	α_2
	鸡的肝脏线粒体	2.1Mn	80000	α_4
	酵母线粒体	4Mn	36000	α_4
FeSOD	<i>Escherichia coli</i>	1Fe	38700	α_2
	<i>spirulina platensis</i> ^{c)}	1Fe	37400	α_2

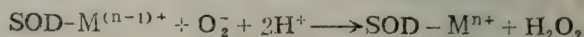
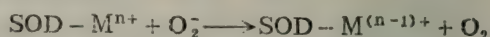
a) 通气厌氧性杆菌

b) 大肠杆菌

c) 蓝藻类

Cu-ZnSOD 在 680nm 与 258nm 处有吸收峰, MnSOD 则为 475nm 与 280nm, FeSOD 为 350nm 与 280nm。FeSOD 是在地球上最早出现的蛋白质, 稍晚是 MnSOD, 而 Cu-ZnSOD 则是在地球上形成好氧性条件以后才出现的。

Cu-ZnSOD 是第二类铜蛋白 (非蓝铜)。与 O_2^- 的反应速度接近扩散速度, 其速度常数 $K(v = K[O_2^-][SOD])$ 的数量级为 10^9 摩尔/(升·秒), 反应时必须要有 Cu(II), 脱 Cu(II) 后则 SOD 的活性即消失。用 CO(II) 置换 Zn(II), 则活性仍保持 100%。SOD 与 O_2^- 通常有如下的反应:



当 M^{n+} 为 Cu(II) 时, 反应物的氧化还原电位 $E'_0(V)$ 如表 2-11 所列。

表 2-11 氧、铜的氧化还原电位 $E_0^{\frac{1}{2}}$ (a)

反 应	$E_0^{\frac{1}{2}}(\text{V})$
$\text{O}_2 + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{O}_2^-$	-0.36
$\text{Cu}^{2+} (\text{溶液}) + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cu}^+ (\text{溶液})$	0.17
$\text{SOD} - \text{Cu}^{2+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{SOD} - \text{Cu}^+$	0.42
$\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2$	0.90

(a) SOD 是来自牛红细胞的 Cu—ZnSOD

用 ESR 研究了 Cu(II) 与磁性等价的 N 原子的配位, Cu(II) 置换 SOD 的吸收光谱, 由 MCD 光谱测得的 Zn(II) 的结合部位同碳酸脱氢酶的结构近似。最近已对牛红细胞的 Cu—ZnSOD 作了 X 射线晶体结构分析 (分辨率 0.3nm)。这种 SOD 的分子量为 31400, 含氨基酸 151 个, 每一亚基含 1 个 Cu 和 1 个 Zn, 680nm 处的摩尔消光系数为 300。采用 X 射线分析可测得 Cu 与 Zn 之间的距离为 0.6nm, 它们都与同一个 His61 的咪唑核相结合。Cu 除了 His61 以外, 还与 His44、His46、His118 的咪唑核 N 结合, 成为稍有变形的正方形平面。Zn 与 His61、His69、His78 的咪唑核 N 以及 Asp81 的 β -羧基勉强结合成正四面体形 (图 2-33)。

2 个亚基极为相似, 在溶液中其骨架完全等价或非常相似。亚基间的键是由数个氢键和多个疏水键组成。Zn(II) 的作用是维持活性部位旁的多肽的构象。在二聚体中 2 个 Cu 相距约 3.4nm。有趣的是, 咪唑核作为 Cu 与 Zn 间的桥, 至今在小分子络合物中还未见这样的例子。合成的 Cu(II) 络合物 5 可作为这种结构的模型。X 射线分析也证实了这一点 (图 2-34)。

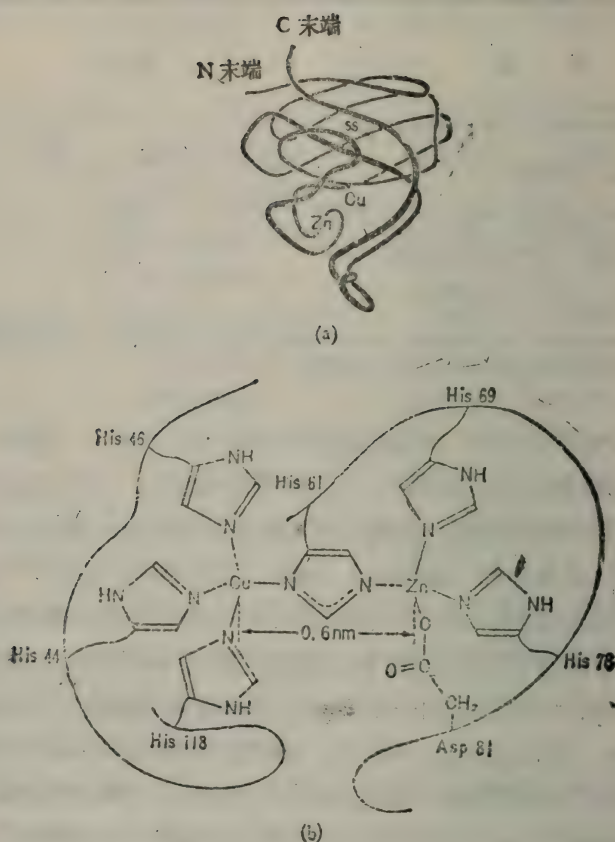


图 2-33 来自牛红细胞的超氧化物歧化酶的多肽链
 (U. S. Richardson, K. A. Thomas, B. H. Rubin,
 D. C. Richardson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,
 Vol. 72, 1349 (1975))
 与 Cu、Zn 配位结构的模式:
 (a) 亚基的简化骨架
 (b) Cu、Zn 的配位结构

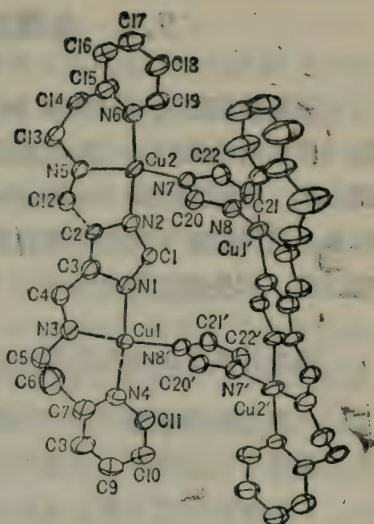
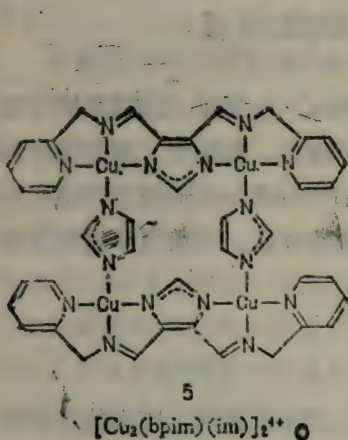
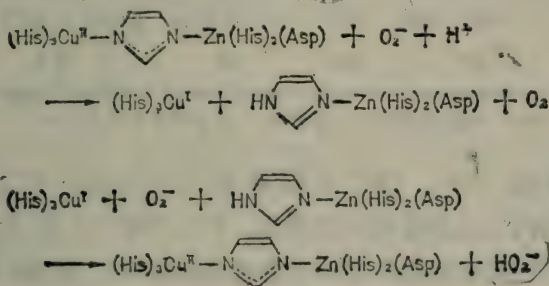


图 2-34 $[\text{Cu}_2(\text{bpim})(\text{im})]_2^+$ 的二聚体结构 (G. Kolks, C. R. Frihart, H. N. Rabinowitz, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 98, 5720 (1976))

切断这种桥式结构，可能会出现如下的反应机制：



关于 SOD 的研究，尚待进一步开展。

2.5 金属离子的膜通透

细胞被细胞膜 (plasma membrane) 包围着, 由膜来调节细胞内外物质的流通。在细胞内部的细胞核、线粒体、高尔基体被膜包围, 连同内质网 (endoplasmic reticulum) 形成了细胞内膜体系。这种膜对于离子的通透表现出选择性, 导致离子逆浓度梯度迁移、产生电化学势……

膜内外离子的分布和膜的结构

一般的物质单靠扩散是不能通过生物体膜的。膜有物质选择性或通透方向选择性, 这就是使膜内外的物质产生浓度差的原因。各种细胞对碱及碱土金属离子表现的浓度差如表 2-12 所列。

表 2-12 各种生物体系的金属离子浓度 (10^{-3} 摩尔/升)

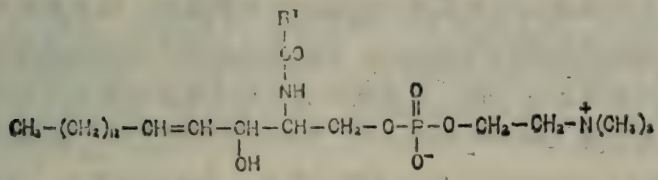
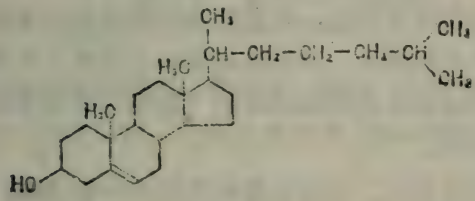
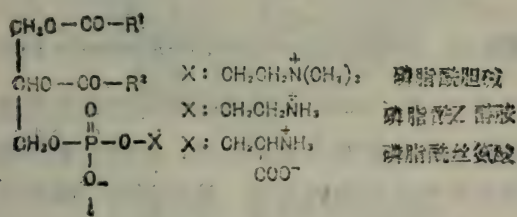
生物体系	金属离子 ^(a)							
	Na_i^+	Na_o^+	K_i^+	K_o^+	Mg_i^{2+}	Mg_o^{2+}	Ca_i^{2+}	Ca_o^{2+}
红血球 (人)	15	143	152	5	2.5	1.0	$<10^{-3}$	3.0
骨骼肌 (蛙)	10	108	120	5	15	1.6	$\sim 10^{-6}$	2.0
乌贼神经	~ 10	450	355	10	<20.0	53.0	$<10^{-5}$	10.0
大肠杆菌	50		250		20		<5	

(a) Na_i^+ , Na_o^+ 等的 i 表示存在于细胞内, o 表示存在于细胞外。

从整体上来看, Na^+ 、 Ca^{2+} 主要存在于细胞外, K^+ 、 Mg^{2+} 则存在于细胞内。由此分布可以看出, K^+ 、 Mg^{2+} 是在细胞内而 Na^+ 、 Ca^{2+} 则是在细胞外显示出各种生理活性。如果 Ca^{2+} 进入细胞内, 则会导致肌肉收缩。在膜通透上对离子的选择性是由于通透的机制。为了降低浓度梯度而发生的物质迁移, 必然伴随着

能量消耗。在研究这个问题前，先概述一下目前已掌握的膜结构知识。

生物膜含有脂类和蛋白质。脂类有疏水和亲水的两部分，与蛋白质紧密地结合在一起。膜的组成形式因种类不同而异，脂类与蛋白质之比 (Kg/Kg) 为 0.5~1.0。主要的脂类有磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺等磷脂酸(phosphatidic acid)的衍生物(1)，胆固醇 (cholesterol)(2)，(神经)鞘磷脂 (sphingomyelin)(3)。将蛋白质从膜分离出来很困难，因此以往的研究进展很缓慢。近来才开始采用一种与脂结合弱而与蛋白质结合强的洗剂或溶剂将蛋白质从膜上提取出来。根据聚丙烯酰胺凝胶电泳法对蛋白质的分析结果，膜内有很多的蛋白质，其分子量范围在 25000~230000 之间。



3

R¹, R², 脂肪酸的烃基部分

膜的结构是由 H. Davson、J. Danielli 提出的，再经 J. D. Robertson 修改的脂类双层模型。即，在膜中各种极性脂类的烃基部分指向内侧排列，通过疏水键形成双分子层，亲水基则伸向外侧（图 2-35）。

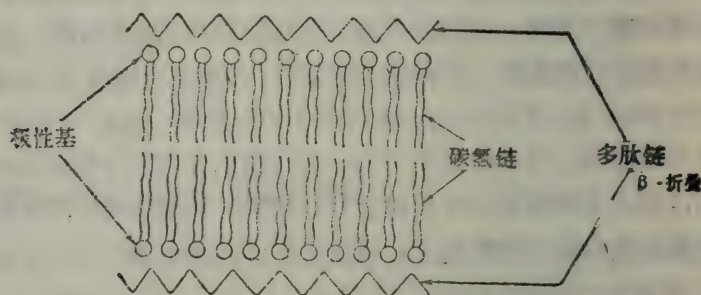


图 2-35 膜的 Davson-Danielli-Robertson 模型

S. J. Singer 和 G. L. Nicolson 的镶嵌结构模型是更先进的模型，它是脂类与球蛋白形成的双层镶嵌结构。在此平面结构中，脂类分子与蛋白质分子可以作横向运动，这就说明了膜的柔软性。蛋白质贯穿膜，并在两侧伸出，其余的蛋白质仅有一半陷入脂类，或为完全埋藏在内的状态。膜的构成是由于脂类之间及脂类与蛋白质之间的疏水性相互作用或静电的（氢键）相互作用。这一模型的示意如图 2-36。

物质通过膜的形式，包括细胞的内部与外部之间的输送，从外部通过细胞再向其它细胞的外部输送，以及如线粒体那样的细胞器在膜内外的输送。现就其中最常见的细胞内部与外部之间的输送加以讨论。膜通透可以分为溶质逆溶液浓度梯度迁移的主动运输 (active transport) 和顺浓度梯度迁移的被动运输 (passive transport)。主动运输必须伴以自由能的增大，不能自发地进行，在生物体内发生时要消耗 ATP。根据物质的不同种类，膜

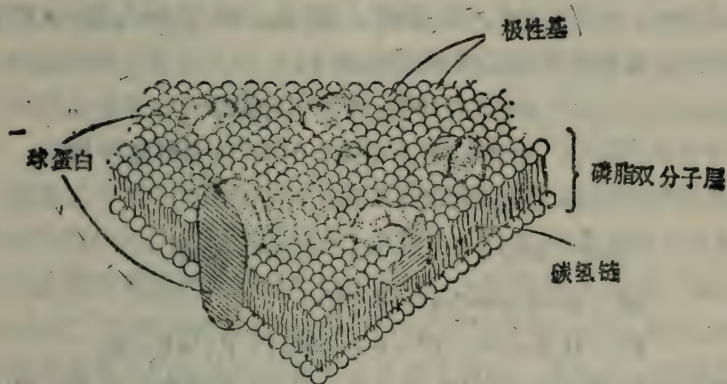
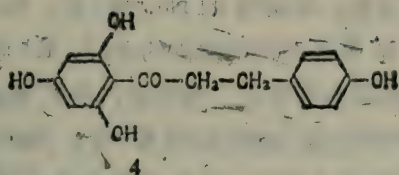


图 2-36 膜的镶嵌结构模型

(S.J. Singer, G.L. Nicolson, *Science*, vol. 175, 720 (1972))

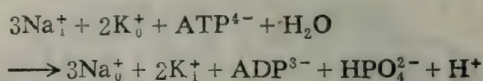
内存在作为特异性载体的蛋白质。例如，人红细胞中的葡萄糖载体，就是一种蛋白质，它阻止根皮素 (phloretin)(4) 通过。

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 泵

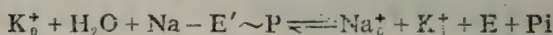
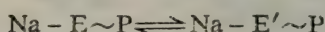
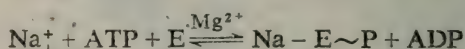
表 2-12 表明，细胞内 K^+ 的浓度高， Na^+ 的浓度低。高浓度的 K^+ 对于糖原酶解*、神经的作用**、核糖体的蛋白质生物合成等细胞内的各种功能，都是必要的。为了保持这种状态，必须

- 糖原酶解(glycolysis)是分解糖以获取能量的过程。
- 影响肌肉神经的兴奋程度。——译者

有一种机构从细胞内排出 Na^+ ，并从细胞外吸入 K^+ ，这就是 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶体系，即所谓的 Na^+-K^+ 泵。 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶是利用 ATP 的能量来保持细胞内的 Na^+ 、 K^+ 浓度的机构，几乎所有的动物细胞膜内均存在。当细胞内存在 MgATP^{2-} 和高浓度的 Na^+ ，在细胞外存在高浓度的 K^+ 时， $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的活性最高。它会受到鸟木苷的抑制*。细胞内只有当 Na^+ 存在时才能显示这种酶的活性，所以叫做 Na^+ 泵。细胞内外的 Na^+ 、 K^+ 若以 Na_i^+ 、 K_i^+ 和 Na_o^+ 、 K_o^+ 表示，那么，由于 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的作用，这些离子的迁移如下式进行。



通透作用的机制，可以认为如下式：



但是 E、E' 酶的构象不同。E~P、E'~P 为磷酸化合物，Pi 为无机磷酸。

脊椎动物通过 Na^+-K^+ 泵对葡萄糖和氨基酸进行主动运输，即通过 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶形成的 Na^+ 浓度梯度，使结合 Na^+ 和葡萄糖的载体起作用，将葡萄糖逆浓度梯度送入细胞内。对氨基酸也是如此。由于氨基酸的种类不同，存在不同的载体。进入细胞内的 Na^+ 再借助 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATP}$ 酶排出细胞外。

另一方面， Ca^{2+} 的膜通透被认为是借助于肌纤维的细胞质——所谓肌形质向内质网体进行输送，起到松弛肌肉的作用。这是 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$ 酶的活动使 ATP 水解，由水解释放的能量供 Ca^{2+} 的主动运输用。在线粒体的电子传递上，每结合 2 个电子，则输

* 鸟木苷抑制钠泵工作，从而抑制糖的吸收。——译者

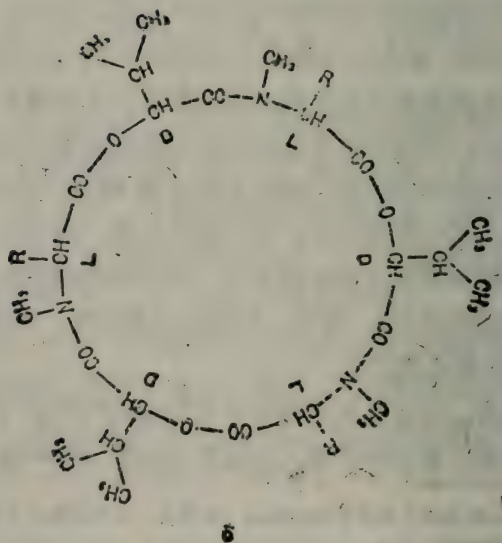
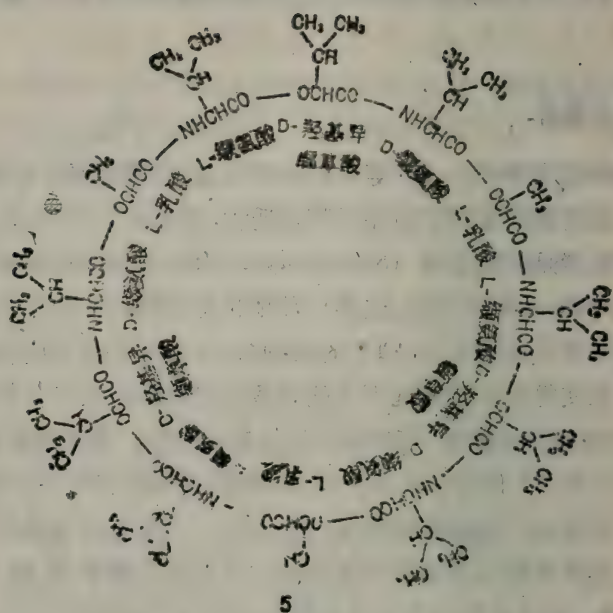
入 6 个 Ca^{2+} 。这种机制对于保持细胞内低浓度的 Ca^{2+} ，有重要意义。

离子载体

前已述及 Na^+ 、 K^+ 等的膜通透机制，它调节离子浓度。抗生素对这些金属离子的脂溶性或膜通透性，都有巨大的影响。发现最早的抗生素是从放线菌 (*Streptomyces fulvissinus*) 得到的缬氨霉素 (valinomycin)(5)。这是一种环状化合物，它的存在能抑制线粒体的氧化磷酸化中 ATP 的生物合成(切断了电子传递途径)。这种现象使得在正常情况下不能通透的线粒体内膜可以顺利放过 K^+ ，所以消耗掉合成 ATP 必需的能量。也即，缬氨霉素借极性的羰基氧与 K^+ 作静电结合，将 K^+ 包围在环状结构中，非极性基向外侧伸出，形成脂溶性 K^+ 络合物。一般与碱金属离子相结合的这类具有脂溶性结构与性质的化合物称为离子载体 (ionophore)*。在其结构内含有许多能与金属离子结合的氧原子。具有与缬氨霉素相似的环状结构的天然离子载体，已知的有恩镰孢菌素 (enniatin)(6) 和无活性菌素 (nonactin)(7) 及其类似物等。缬氨霉素和恩镰孢菌素具有酰胺键和脂键，无活性菌素只通过酯键成环。其中，中性的离子载体没有可解离的氢。与此相反的有莫能菌素 (monensin)(8)，X537A 拉沙里菌素 (lasalocid)(9) 等链状结构，其一端有羧基，另一端有羟基，所以，在形成络合物时，在这两个基团之间形成氢键，而成为环状结构。在这种情形中，必须解离出 H^+ ，所以，与缬氨霉素不同，在形成络合物时必须将 pH 调至适当值。

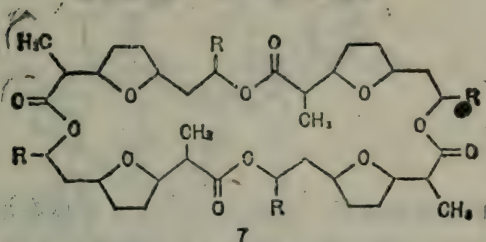
另一方面，合成的化合物中也有与碱金属离子可进行有效的结合的，形成一系列环状醚，即冠状化合物 (crown compound)

* ionophore 来源于希腊语的 -phone (有带者、运者之意)，是指离子的运载工具、运载体。(bearer)。



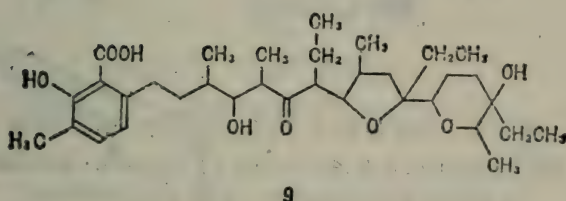
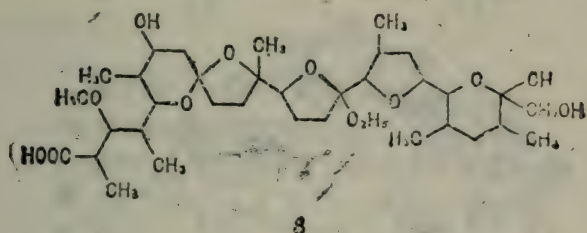
恩德孢菌素 A : $R = CH(CH_2CH_2CH_3)$

恩德孢菌素 B : $R = CH(CH_3)_2$



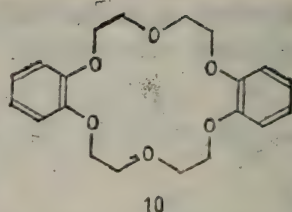
无活性菌素 : $R = CH_3$

单活性菌素, 双活性菌素, 三活性菌素, 四活性菌素
 分别有1, 2, 3, 4个R, 每个R 为 C_2H_5



这是1967年由 C. J. Pedersen 首先发现的。冠醚的命名为: 名称前部为取代的烃基, 其后为成环的原子个数, 再后标上“冠”字, 末尾是醚键的氧原子个数。例如 (10) 是二苯并-18-冠-6 (di-benzo-18-crown-6)。这类化合物也是借助于醚键的氧将金属离子“钳制”在环的内部, 与缬氨霉素一样, 提高了金属离子的脂溶

性和膜通透性。



经 X 射线晶体分析, 确定了几种离子载体在溶液中是金属离子被包在环中央的结构。缬氨霉素- K^+ 络合物 (图 2-37) 是酯键的羰基氧与 K^+ 相结合, 肽键的 N,O 参与氢键。 K^+-O 的键长为 $0.27 \sim 0.28nm$ 。

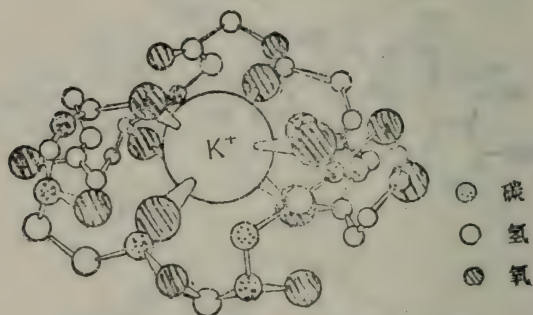


图 2-37 缬氨霉素- K^+ 络合物的结构 (省略侧链)

(M. Pinkerton, L. K. Steimarf, P. Dovkins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 35, 512 (1969))

无活性菌素- K^+ 络合物 (图 2-38)、恩镰孢菌素 B- K^+ 络合物的 K^+-O 键长分别为 $0.27 \sim 0.29nm$ 和 $0.26 \sim 0.28nm$ 。冠醚 (二苯并-18-冠-6)- $RbNCS$ (图 2-39) 的 Rb^+-O 距离是 $0.27 \sim 0.28nm$, (苯并-15-冠-5)- $Mg(NCS)_2$ (图 2-40) 的 $Mg^{2+}-O$ 距离为 $0.22nm$ 。

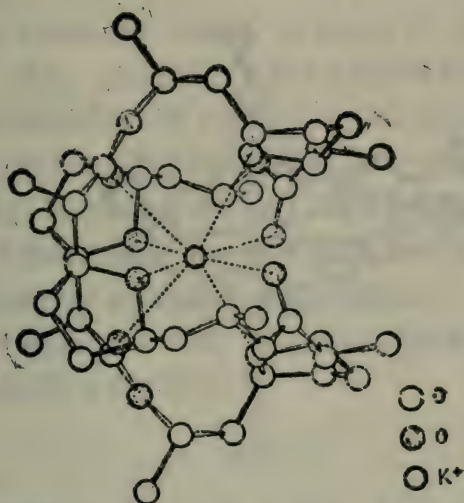


图 2-38 无活性菌素 -K⁺ 络合物结构

(B. T. Kilbourn, J. D. Dunitz, L. A. R. Pioda,
W. Simon, J. Mol. Biol., Vol. 30, 559 (1967))

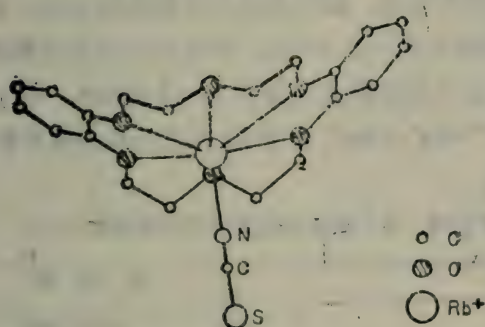


图 2-39 (二苯并-18-冠-6) -RbNCS 络合物的结构

(D. Bright, M. R. Truter, Nature, Vol. 225, 176 (1970))

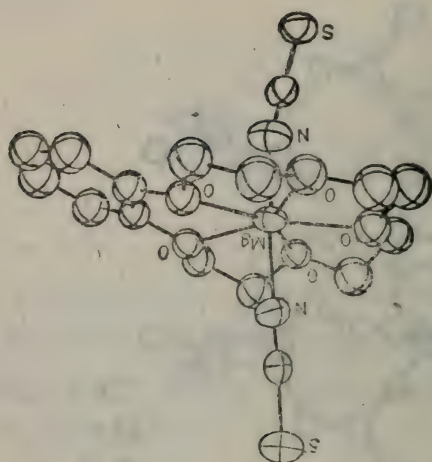


图 2-40 (苯并-15-冠-5)- $\text{Mg}(\text{NCS})_2$ 络合物的结构
(J.D.Owen, J.Chem.Soc.Dalton Trans.1978, p.1416)

离子载体对金属离子的选择性即络合物稳定性的差异。对冠醚类化合物来说主要是由环状结构的空腔的大小和金属离子的大小决定的。空腔的大小与离子恰好匹配，则形成稳定的络合物；离子的大小与空腔配合差，则形成稳定性低的络合物。例如 15-冠-5 的空腔直径为 $0.17\sim 0.22\text{nm}$ ，络合物的稳定性顺序为 $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+$ 。18-冠-6 的空腔直径为 $0.26\sim 0.32\text{nm}$ ，络合物的稳定性顺序则为 $\text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Na}^+$ 。表 2-13 列出天然的离子载体的络合物稳定性顺序。

表 2-13 离子载体对金属离子的选择性

离子载体	选 择 性
缬氨霉素	$\text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$
无活性菌素	$\text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$
二苯并-18-冠-6	$\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$
莫能霉素	$\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Li}^+ > \text{Cs}^+$
拉沙里菌素(X-537A)	$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ = \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$

一般认为是 $K^+ \approx Rb^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$, K^+ 与 Rb^+ 的离子半径分别为 0.133nm 和 0.147nm, 其差值比 K^+ 与 Na^+ 的差值 (0.097nm) 要小, 在此情况下内腔大小的影响很大。金属离子在丙酮等非水溶剂中进入离子载体时, 若只从空腔的大小和离子半径大小看, 在含水丙酮中的次序为 $K^+ > Cs^+ > Na^+$, 水分子的存在改变了这一顺序, 水合离子的脱水与络合物的形成之间自由能差别的大小影响选择性, Na^+ 的水合离子脱水比 K^+ 的需要更多的能量, 因此 Na^+ 络合物的稳定性必然较低。

由于离子载体的特殊性质, 以它作为生物膜中的载体模型, 对于膜通透的研究有重要意义。

生物无机化学关于生命组成的研究

研究生命科学方面，最初是生物学者和生化学者，后来是无机化学家，都对生命现象的探索作出了贡献。他们用什么方法进行研究，这一章将对此作重点讨论。首先介绍生物无机化学的研究方法，如何采用这些研究方法来了解各种生物高分子物质的结构和功能，并举一些实例。

3.1 生物无机化学的研究方法

如在绪论一开始就指出的，生物无机化学是以无机化学的知识为基础，采用无机化学的方法来研究一般生物化学的领域。Werner学说的提出，使无机化学由组成化学走向结构化学。从此，尤其是本世纪中叶以后，无机化学的发展以络合物化学为中心，已是有目共睹的了。研究方法得到充实，同时积累了大量的知识。这些知识及研究方法不仅探明生物体系的机构与功能，也为这方面的研究提供了新的力量。生物无机化学作为探索生命的科学，在研究方法方面大体分为，通过模型进行的研究，和以金属离子为中心直接对生物体物质进行的研究。

利用模型化合物的研究方法

我们已经知道，无论是多么简单的生物，为满足其生命活动——也即维持其个体的生存，以及更重要的生长、繁殖、运动和其它要求，都必须有一系列令人吃惊的、十分复杂的、十分巧妙的生物反应与之相适应。由于这种生命现象都是在分子水平上进行结构和能量的变化，尚有许多问题未获解决。为了探索生命的组成，与生命科学有关的各部门研究者必须共同协作，才能达到目的。生物无机化学工作者只是这一协作群体中的一员。他可能被期望的贡献是，探究生物体内的诸反应。但是，与生物体有关的蛋白质是极复杂的生物高分子物质，要想了解什么样的结构是根本的，反应又是按什么样的机制进行，非常困难。因此，尽可能多地把这些复杂的结构和机能特点分解成容易处理的模型体系，通过这些特性来理解生物体系，是经常采用的手段。

生物无机化学的“模型”，是学者们为了探索生命的组成所提出的研究手段。换言之，为了加深对生物体系的结构和功能 的理解，通过模型所获得的资料必须具有针对性。例如，高度氟化了的某种含碳的化合物，具有将 O_2 和 CO_2 进行物理性溶解的性质，现正进行研究将它作为 O_2 的载体以成为血液代用品。以实用为目的，该研究本身是一项有意义的工作，但仅从能够用做 O_2 的载体这一性质，而认为氟碳化合物是血红蛋白的一个模型则是错误的。原因是，氟碳化合物的结构和溶解 O_2 的功能同血红蛋白的结构和功能之间，一开始就没有任何关系。人工代用品和生物无机化学模型是性质完全不同的两回事。

采用模型进行研究，是生物无机化学家的基本观点。自然界深奥、复杂，但归根结蒂也不过是一个个简单现象的综合表现。这种决定着一个个现象的物质与反应，同迄今的物质科学确认的或

将确认的物质与反应，没有本质上的区别。模型是为了显现组成生物体系的简单、易于研究的各个现象而设计的实验手段。

近年来，获得了各种酶蛋白结晶，其 X 射线衍射结构分析的数据也逐渐积累起来。其中也有像羧肽酶 A（参见 2.2）那样的例子，它的酶—底物络合物的结构和酶本身的结构均已阐明。当然，为了理解这种酶的结构和功能，应该说这样的资料是最有用的。但是，研究对象是蛋白质，对它进行极高精度的 X 射线衍射分析，并不能轻易获得成功。在进行 X 射线分析之前，准备齐全氨基酸排列顺序等众多的预备资料是十分重要的。在这一阶段，研究模型是首要任务。X 射线研究获得的结果仅仅是结晶蛋白质的结构，也许与在生物体中表现活性的结构并不一致，况且，即使是高分辨率的分析结果，也很难推断在整个蛋白质结构中的活性部位，小分子在哪一位置上，作什么样的取向。进一步说，即使上述问题全部获得答案，通过 X 射线分析取得的酶—底物络合物的结构等，也不过是不断变化着的结构的其中的一种图景描绘。因此，尽管 X 射线分析是非常有用的资料，但并不是万能的。剩下的工作就是根据其结构，分辨是哪种力的作用使活性得以表达，从而更详细地阐明功能。即使在这一阶段，模型也担负着重任。针对生物活性蛋白质的结构与功能，如何通过具体的模型进行研究，这些问题将在 3.2 以后讨论。

处理生物物质的着眼点

就处理生物物质的着眼点而言，生物无机化学与生物化学是不同的。如果两者相同，则是生物化学，而失去无机化学的特点。所谓无机化学的特点就是把探索重点放在在生物体的结构和功能中发挥作用的金属离子上。

当位于蛋白质活性部位，担负表达其活性的重任的是过渡金属时，采用络合物化学的知识与研究方法是有效的。络合物化学可

根据金属离子的种类，推断蛋白质侧链中的配位基并预测其立体化学。常常用各种光谱学方法来判断这种推论是否正确。尤其是利用可见区到紫外区的电子光谱和同时并用 CD 光谱、MCD 光谱等，更为有效。这些光谱随温度的变化，更是迫切希望认识的。它们常常应用于小分子络合物的结构研究，也同样能提供重要的数据。此外，以 NMR、ESR、Mössbauer、ESCA(X 射线光电子) 等谱以及磁化率测定为主，加上还原电位测定和滴定实验等，凡是能够用于现代络合物化学的几乎所有的研究方法，都能够阐明过渡金属离子及其络合环境。总之，充分利用研究 d 电子带来的信息是以往的生物化学工作者不常使用的，而这恰恰是无机化学、络合物化学工作者最为得意的研究手段。

用别的金属离子置换金属蛋白质内原有的金属离子，也是用于这种结构研究的方法。特别是当原来的金属离子，例如 Zn(II) 等，为 d^{10} 的电子构型时，得不到上述基于 d 电子的资料，而以 Co(II) 或 Cu(II) 等别的金属离子置换，即可以获得有关 d 电子的数据以供研究。尽管如此，但是将原有的金属离子去掉，再导入别的金属离子时，导入的离子未必顶替了原先的位置，酶的活性多少也会有变化。即便如此，这一方法对于了解有关金属酶的结构与功能，仍然十分重要。而且，如果用多种金属离子置换时，仅在特定的场合才有活性，则也提供了有用的信息。

不仅为了了解金属离子，同时也为了了解底物或抑制剂在酶促反应中与酶的活性部位表现出怎样的相互作用，我们可以追踪那些结构类似但性质不同的化合物的反应状况。例如 CO_2 和 N_2 是等电子结构中直线状的三原子分子，在碳酸脱氢酶的活性部位对 Zn(II) 的反应有明显的不同（参见 2.2），Wang 等人采用 IR 光谱深入研究这一差别，成功地推断了碳酸脱氢酶的作用原理。顺便提一下，蛋白质中的小分子的红外吸收，在通常观测时可不予考虑，因为 $2200\sim 1800\text{cm}^{-1}$ 区域几乎观测不到吸收，只能用

多重键的简单分子的吸收作进一步追踪研究。

以下在介绍实例时，重点放在生物无机化学的研究方法上，包括以往的一些研究报道，虽然由于这一分支日新月异的发展，这些研究报道已失去其原有的重要地位，但它们在整個生物无机化学研究进程中的先驱作用是不容忽视的。

3.2 血红蛋白和肌红蛋白的模型化合物

血红蛋白和肌红蛋白的结构与功能已在 2.3 中概括地讨论过。自 Kendrew 和 Perutz 作出它们的 X 射线分析结果后，已积累了大量的研究成果。血红蛋白和肌红蛋白是现今研究得最透彻的两种蛋白质。目前生物无机化学在研究方法方面虽然已经取得为数甚多的成就，但是要做到完全透彻，仍是期望中的事。这一节里，将在理解血红蛋白和肌红蛋白的结构和功能的基础上，深浅程度不等地介绍重要的生物无机化学知识，以及采用模型化合物进行研究的实例。

金属络合物与 O_2 的相互作用

自 Werner 的时代以来，络合物化学工作者合成 $Co(III)$ 络合物多采用使 $Co(II)$ 与配位体相结合后接着进行空气氧化的方法。这是利用了 $Co(II)$ 络合物的迅速形成的特点。 $Co(II)$ 的氨溶液原是 O_2 的弱载体，但是经过空气氧化，形成了褐色的抗磁性的络合物 $[(H_3N)_5CoO_2Co(NH_3)_5]^{4+}$ 。用 H_2O_2 代替空气来氧化，可获绿色的顺磁性络合物 $[(H_3N)_5CoO_2Co(NH_3)_5]^{5+}$ 。 $Co(II)$ 的氰基络合物经空气氧化，也成为褐色的抗磁性络合物 $[(NC)_5CoO_2Co(CN)_5]^{8-}$ ；若在碱性环境中以 Br_2 处理，则生成红色的顺磁性物质 $[(NC)_5CoO_2Co(CN)_5]^{5-}$ 。这说明，在任何情形中抗磁性络合物是 $Co(III)O_2^{2-}Co(III)$ ，顺磁性络合物是 $Co(III)O_2^-$ 。

Co(III)。总之，原先的 Co(II) 络合物加入了 O_2 分子，就生成 O_2 桥多核络合物。X 射线的分析结果也支持顺磁性络合物的超氧化物离子型的氧桥结构 (图 3-1)。

但是，这种多核络合物的 O_2 不能可逆地解离。某些钴络合物与 O_2 可以进行可逆的结合。如水杨醛与乙二胺形成的西佛碱 (简称 salen) 的 Co(II) 络合物，是一种典型的螯合物(1)。

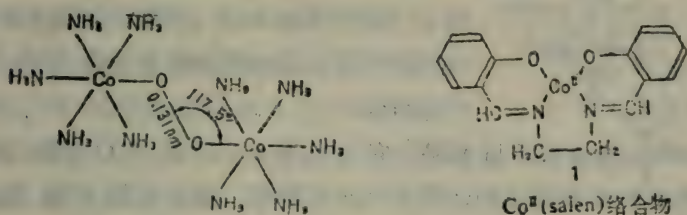


图 3-1 $[(H_3N)_5CoO_2Co(NH_3)_5]^{5+}$ 的结构

Co(II)(salen) 有存在于溶剂中溶解状态的，也有固体状态的，均是极有效的氧载体。络合物有多种结晶形状，其中能与 O_2 结合的分子排列如图 3-2a 所示。平面的 Co(II)(salen) 单元相互平行，在这两个单元之间的 O_2 像桥一样将 2 个 Co(II) 原子联结起来。Co(II)(salen) 没有结合 O_2 的能力的结晶状态，则是二聚体结构，如图 3-2b 所示。

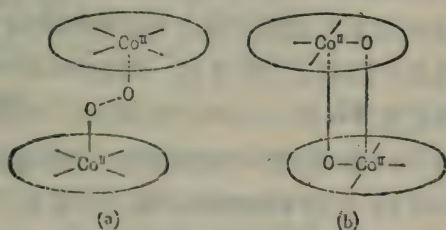
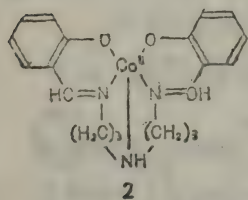


图 3-2 Co(II)(salen) 络合物的活性型 (a) 与无活性型 (b)

这一无活性的结构，其两单元相对应的酚基氧和 Co(II) 两两结合，在 Co(II) 周围形成五配位四角锥结构，阻止与 O_2 的结合。而且， Co(II)(salen) 中的 Co(II) 各有一个孤电子，氧化后的形状如图 3-2a，具有抗磁性。这就说明，最初是低自旋型 d^7 的



Co(II) ，与 O_2 结合时相当于各供应 O_2 一个电子，就成为 $\text{Co(III)O}_2^{2-}\text{Co(III)}$ 的状态。

Co(II)(salen) 的乙二胺部分替换为二胺后所形成的络合物 2 也能与 O_2 可逆地结合。

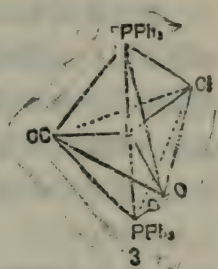
与 salen 络合物不同的是，它与 O_2 结合的比例是 1:1。 Co(II) 为五配位四角锥形结构，具有 3 个孤电子，是高自旋 d^7 构型。氧化时，孤电子数减至 1 个，低自旋 d^5 构型的 Co(III) 与过氧离子 O_2^{2-} 之间以 1:1 相结合。螯合物(1 与 2)的氧化与脱氧化经过几次循环后，结合氧的效率逐渐降低。早期的看法是，这是由于在反复的氧化与脱氧化过程中，结合 O_2 所必需的配位水逐渐丢失的缘故；后来则认为这是因为配位体逐渐被氧化的缘故。

由 His、Lys、Arg、Ser 等氨基酸以及 His 脱羧后形成的组胺，它们的各个 Co(II) 螯合物，和某些二肽的 Co(II) 螯合物，多表现出氧载体的功能。在这些物质中，分离出某些被氧化了的固体，发现它们的组成是 2 摩尔络合物结合 1 摩尔 O_2 。这样的 Co(II) 络合物之所以显示载体功能，是因为即使与 O_2 结合后，它们仍具有相当的可逆氧化还原电位。例如 Fe(II) 的 His 络合物能不可逆地氧化至 Fe(III) 。 Cu(II) 和 Ni(II) 的 His 络合物与 O_2 不起反应。而 Co(II) 的 His 络合物的性能介于上两者之间。最近，有报道 Ni(II) 的四甘氨酸络合物、甘氨酸酰甘氨酸组氨酸络合物在温和的条件下，容易被 O_2 所氧化。这是由于肽的配位活化了 Ni(II) ，从而能够与 O_2 进行反应。在中间阶段经过了

Ni(III) 的状态, 催化了肽配位体的氧化作用。中心金属的性质由于配位体的相互作用而往往发生很大的变化, 这是可以理解的。

除 Co(II) 以外的金属, V(III) 的 salen 络合物 (参见 2.3) 在吡啶溶液中, 与 O_2 进行 1:1 的络合。3 所示的是著名的铱的 Vaska 络合物, 是络合物

$[Ir(I)Cl(CO)(PPh_3)_2]$ 在苯溶液中与 O_2 反应所生成的红色络合物。其结构为以 Ir 为中心的三角双锥。由于它表现出抗磁性, 所以 Ir(I) 与氧仍然是以氧分子的形式配位的。O—O 间的距离为 0.128nm。对于 Ir(II), 氧是 O_2^- 。由 O—O 间的距离也得到了证明。在这种情形中, Ir(II) 与 O_2^- 的自



旋相互作用, 也能说明其反磁性。Ir 的 Vaska 络合物中氧与金属所成的键 (参见图 3-3a), 说明氧采取与乙烯络合物相同的方式, 供给金属离子以 π 电子, 同时 π 电子从金属的 d 电子充满轨道移至 O_2 的反键轨道, 伴有相应的电子反馈*。

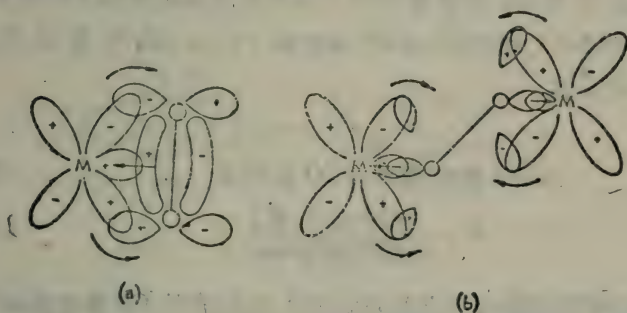


图 3-3 过渡金属离子与氧成的键

- (a) 金属离子与氧的 π 键
- (b) 金属离子与氧的 σ 键

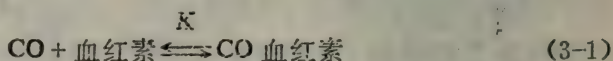
* 视电子迁移的程度, O_2 被部分还原。

前已述及的氧桥多核络合物 $[(H_3N)_5CoO_2Co(NH_3)_5]^{4+}$ 的结构如图 3-3b 所示。这里的氧也同时存在着与 a 相同的电子反馈供予。

Wang 血红蛋白模型

血红蛋白与 O_2 是可逆的结合, 这一结合直接受血红素所制约。血红素与 O_2 的结合是很出色的, 但在水溶液中瞬间就被不可逆地氧化, 成为 $Fe(III)$ 状态, 结合氧的能力也随之消失。即白红蛋白中的血红素与单独的血红素是全然不同的。究其原因, 迄今已有各式各样合成氧载体的报道, 同时也弄清了血红蛋白中的球蛋白所起的作用, 但是, 最早对上述问题给出重要解释的是 Wang 等人的研究。虽然其结论大部分已嫌陈旧, 个别内容还需修正, 但为了介绍生物无机化学的研究进程, 仍须较详尽地介绍一些 Wang 的研究成果。

Wang 等人首先研究血红素在瞬间被 O_2 不可逆地氧化的过程, 比较血红蛋白与 O_2 , 血红素与 O_2 的平衡, 比较血红蛋白与 CO, 血红素与 CO 的平衡情况。结果发现血红素与 CO 的平衡可简单地以 (3-1) 式表示。CO: 血红素 = 1:1, 其平衡常数 K 如 (3-2) 式所示。



$$K = \frac{[CO\text{-}血红素]}{[血红素]P_{CO}} \quad (3-2)$$

系列测定了不同的 CO 分压 (P_{CO}) 时, 血红素的 CO 饱和度, 测定其半饱和分压为 2.4 mmHg (320 Pa) (pH 9.6~10.5; 25°C 左右)。另外, 还报道过 pH 7.4 时, 血红蛋白的 CO 半饱和分压为 0.06 mmHg (8.0 Pa)。血红蛋白的血红素间有着相互作用 (参见 2.3), CO 饱和曲线是 S 型, 就 (3-1) 式那样简单平衡的情形比较其

半饱和分压，也只能是粗略的比较。血红蛋白结合 CO 的能力很强，为血红素的 40 倍。此外，当在血红素的第 5 配位位置上，以吡啶配位时，其半饱和分压将下降至 0.29mmHg(37Pa)，只相当于血红蛋白半饱和分压的 4~5 倍，表明这时的血红蛋白与 CO 的结合能力比起血红素来并不强很多。关于 CO-血红蛋白和 CO-血红素被 O_2 的氧化速度，尽管没有定量的记载，但 CO-血红素的水溶液与空气接触，迅即氧化，而 CO-血红蛋白溶液在空气中可以稳定数周，由此可以认为这两者的反应速度可能相差 10^8 或更大。因此，对于 CO-血红蛋白的抗氧化能力比 CO-血红素大的原因，只能认为是由于 CO-血红蛋白与 CO-血红素的生成自由能相差悬殊而引起的。

研究了血红素(heme)被 O_2 氧化过程，如图 3-4 所示，假设由 O_2 -heme(FeII) 变成 O_2^- -met-heme(FeIII) (O_2^- —介—血红素(FeIII))，则在介电常数低的介质中由于 $Fe(III) \cdots O_2^-$ 间的离子键很强，就抑制了 O^- (或 HO_2) 脱离羟高铁血红素，因而血红素是很难被氧化的。

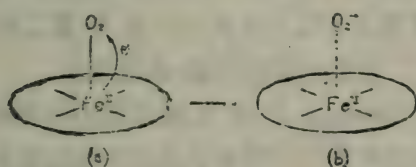


图 3-4 O_2 -heme 的电子传递

Wang 设想血红蛋白的血红素不暴露在表面，它被疏水性蛋白质侧链所覆盖，因此与游离的血红素相比，显示出较强的抗氧化能力。事实上，血红蛋白分子里的血红素是被蛋白链部分地包围着，这方面有实验证据。例如，咪唑或吡啶都能和游离的血红素结合，而不和血红蛋白结合。此外，St. George 和 Pauling 认

为, 血红素与 C_2H_5NC 、 $i-C_3H_7NC$ 以及 $t-C_4H_9NC$ 的结合能力都没有明显的差异, 但血红蛋白与这些化合物的结合差别却很大, 它与体积小的 C_2H_5NC 结合比与体积大的 $t-C_4H_9NC$ 结合要容易的多。 CN^- 与血红蛋白的结合, 跟它与游离血红素的结合, 有明显的差异, 即 CN^- 与血红素可以牢固地结合, 与血红蛋白则不表现反应性。 CN^- 与 CO 是等电子结构 (isoelectronic structure), 大小和形状也比较近似。如前所述, CO 与血红蛋白、血红素结合, 其强度要相差数十倍。对这种 CN^- 、 CO 都表现出来的较大的结合差异, Wang 曾有过报道*。假设在血红蛋白中血红素被珠蛋白疏水侧链所覆盖, 那么, 血红蛋白 Hb 生成的 ^-NC-Hb 络合物的自由能比游离的血红素 heme 生成的 $^-NC-heme$ 的自由能要大, 也即带电离子从高介电性的环境进入低介电性的环境必须做较大的静电功。

根据实验结果作出解释, 进而提出新的假说, 因此, 接下去必须做实验, 判定血红素在低介电性的环境中, 是否仅表现出它对 O_2 的氧化有抗性。为此, 要了解血红素在非水溶剂中的表现。Wang 做了这样的实验: 在苯溶液中用吡啶作为轴配位体, 同血红素二酯配位, 再通入 CO , 生成 CO -血红素二酯-吡啶 ($CO-hemediester-Py$), 确定知道它对 O_2 是稳定的。

以上的研究是 Wang 血红蛋白模型提出的先决条件。即, 血红蛋白的珠蛋白疏水性蛋白质侧链覆盖在血红素的周围, 从而形成低介电性的环境, 因此抑制了血红素 $Fe(II)$ 结合 O_2 后, 羟高铁血红素中 O_2^- 的放出。如果这种环境以完全不同的化合物加以再现, 推测血红素即使在水溶液中也具有抗氧化性。

* 参看 J.H.Wang: Hemoglobin studies. 1. The Combination monoxide With hemoglobin and related model compounds. J. Amer. Chem. Soc., Vol. 80, 1109 (1958) ——译者

Wang 以图 3-5 表示的步骤合成了模型。1-(2-苯乙基)咪唑-一氧化碳血红蛋白二酯 (1-(2-Phenylethyl) imidazole carbonmonoxy hemediester) 在聚苯乙烯环境中显示与 CO-Hb 很相似的光谱。其全貌的模式示于图 3-6。

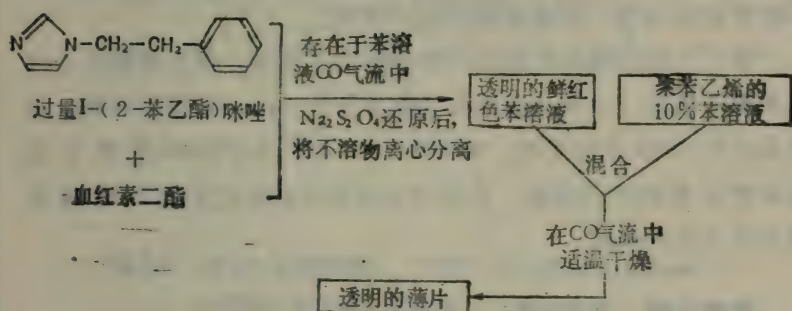


图 3-5 Wang 的血红蛋白模型的合成程序

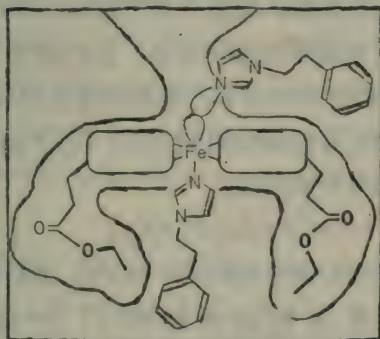


图 3-6 Wang 血红蛋白模型 (J. H. Wang, *Acc. Chem. Res.*, Vol. 3, 90 (1970))

得到的薄片状模型, 通 N_2 数小时, 则获典型的血色原 (hemoc-

hrome) (参见 2.3) 样的光谱, 符合图 3-6 的结构, 再通入 CO , 则得到相当于 CO-Hb 的光谱, 用 O_2 代替 CO 则给出如 $\text{O}_2\text{-Hb}$ 的光谱。这种操作可以反复进行。这里, 即使将薄片保存在为空气所饱和的水中, 模型化合物也不会被氧化成含 Fe(III) 的化合物。但是, 不用血红素二酯而直接用血红素制成薄片, 则不可逆氧化将发生。这是由于在苯乙烯疏水基质中, 非酯形成的血红素不能完全被包埋, 而暴露出表面的缘故。

第一个血红蛋白的模型就这样取得了成功。关于根据什么设想来设计模型, 其成功的结果意味着什么……, 很值得玩味。该模型是在 1958 年报道的。后来在 1966 年, Kendrew 发表了血红素的 X 射线分析结果, 证明 Wang 提出的血红素周围结构设想大体上是正确的。

围栅卟啉

Wang 血红蛋白模型提出后 10 年左右的时间里, 人们又陆续提出各种血红蛋白模型, 拓宽了研究途径。Hammond 等研究了 Fe(II) 在水溶液中的自动氧化现象。他们研究了乙醇水溶液中氯化铁 (II) 自动氧化的动力学, 其反应速度已知 Fe(II) 为二级, O_2 为一级。血红素也即卟啉铁 (II) (以下简称 Fe(II)·P), 其氧化速度 v 如 (3-3) 式所示:

$$v = K[\text{Fe(II)·P}]^2[\text{O}_2] \quad (3-3)$$

在氧化机理方面, 与 O_2 结合的 Fe(II)·P—O_2 再与第二个 Fe(II)·P 反应, 中间经过氧桥多核络合物 $\text{Fe(II)·P—O}_2\text{—Fe(II)·P}$ 的生成, 最后变为 Fe(III)·P 。因此, 如果能合成一种模型化合物, 在这个模型中第二个 Fe(II)·P 只能接近 Fe(II)·P—O_2 但不能与之结合, 那么它可能显示载氧功能, 选择卟啉类与铁(II)的小分子络合物是个方向。Collman 等人按照这一想法合成了卟啉衍生物的 Fe(II) 络合物, 如图 3-7 所示。

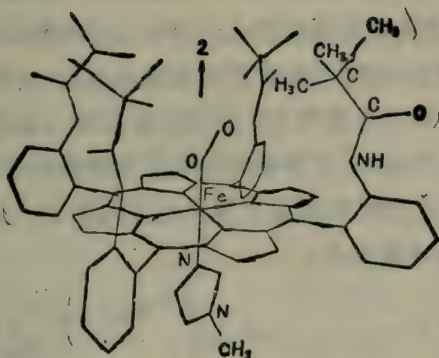


图 3-7 单(N-甲基咪唑) (二氧) -介-四($\alpha, \alpha, \alpha, \alpha$ - o -三甲基乙酰胺苯胺) 卟吩铁(II) (围栅卟啉)

由图 3-7 可见, 这一结构是由四个三甲基乙酰胺构成 0.54nm 的疏水空间, 与 Fe(II) 结合的 O_2 被围在里面。这个屏障恰好防备第二个 $\text{Fe(II)} \cdot \text{P}$ 与 $\text{Fe(II)} \cdot \text{P}-\text{O}_2$ 结合。事实上, $\text{Fe(II)} \cdot \text{P}$ 络合物与 O_2 可以进行可逆的结合 (25°C 时, 12 个小时)。Collman 称它为围栅卟啉 (picketfence porphyrin, mono(N-methylimidazole) (dioxygen)-meso-tetra($\alpha, \alpha, \alpha, \alpha$ - o -pivalamidephenyl)-porphyrinatoiron(II))。

由 X 射线分析确定: $\text{Fe}-\text{N}$ (咪唑), 0.207nm ; $\text{Fe}-\text{O}(\text{O}_2)$, 0.175nm ; $\text{O}-\text{O}$ $0.123 \sim 0.16\text{nm}$; Fe 与 O_2 的结合为竖型 (end-on), 键角 $\angle \text{Fe}-\text{O}-\text{O}$, $135 \sim 137^\circ$ 。因为在血红蛋白上 O_2 与 Fe 的键 (参见 2.3) 尚未得到最后的结论, 所以该模型化合物的 X 射线分析结果是很有价值的。模型和血红蛋白或许有不少区别, 但至少从围栅卟啉得到的数据可以看出, $\text{Fe}-\text{O}$ 键的键级较高, O_2 按竖型与 Fe 结合。但它是 $\text{Fe(II)}-\text{O}_2$ 还是 $\text{Fe(III)}-\text{O}_2^-$ 尚不

能确定*。据此，它们的表现也许是所谓“中间状态”。虽然如此，此络合物与 O_2-Hb 的 O_2 的伸缩振动约有 $50cm^{-1}$ 之差（参见2.3），这种差别究竟说明什么，颇令人感兴趣。

当血红蛋白的第5配位位置有吡啶配位时，血红素的 CO 半饱和和分压较低，即血红素与 CO 的结合较牢固（参见 Wang 血红蛋白模型一节）。Traylor 使卟啉核的侧链与咪唑核以共价键相连接，当与 $Fe(II)$ 配位时恰好满足了适当的空间条件，并试验了他的合成模型的功能（图 3-8）。

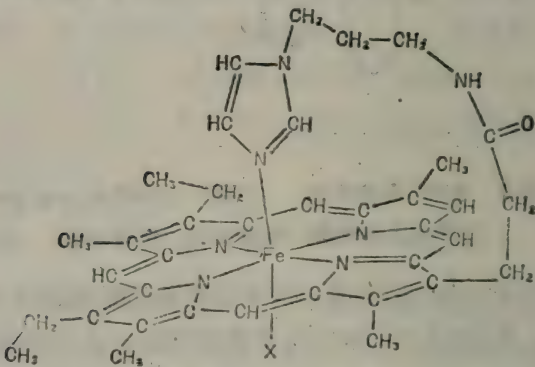


图 3-8 近端卟啉 (T. G. Traylor, 1974)

这一模型模拟血红蛋白和肌红蛋白近端组氨酸的咪唑与 $Fe(II)$ 配位，以使 $Fe(II)-O_2$ 的键稳定化，因此称为近端卟啉 (proximal base porphyrin)。图中 X 的配位位置与 O_2 结合，但至少在低温条件下，即使与 O_2 或 CO 结合，也不会发生 $Fe(II) \rightarrow Fe(III)$ 的变化。这就是说，它具有氧载体的功能。但是在接近室温时，上述结合小分子的络合物即行分明。因此，从功能上来看，该模型尽管只前进了一步，但它指出了血红蛋白、肌红蛋白的近端组氨

* $O-O$ 间的距离，过氧化物离子 O_2^{2-} 为 $0.149nm$ ，超氧化物离子 $O_2^{\cdot -}$ 为 $0.133nm$ ， O_2 分子为 $0.121nm$ ， O_2^+ 为 $0.112nm$ 。以上为它们的标准值。

酸的重要性。

Baldwin 合成了卟啉环的一侧被包围着的模型，即戴帽卟啉 Fe(II) (capped porphyrin Fe(II)) (见图 3-9)。

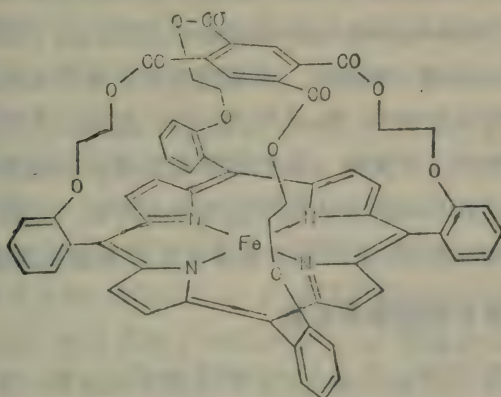


图 3-9 戴帽卟啉 (J. E. Baldwin, 1975)

Chang 也提出了类似结构的模型即加冠卟啉 Fe(II) (Crowned porphyrin Fe(II)) (图 3-10)。

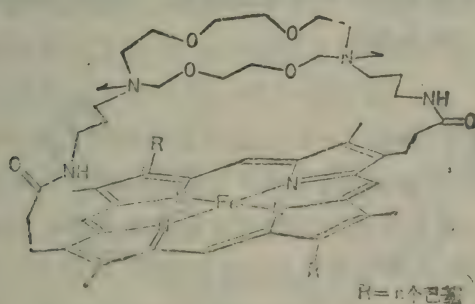


图 3-10 加冠卟啉 (C. K. Chang, 1977)

由其结构可以推测，五冠下面的空间是十分宽敞的，因此

Fe(II)可与1~2个吡啶分子进行配位。吡啶与O₂作用时，一个吡啶分子可被O₂置换，这就发生了氧化。--20℃时氧化是可逆的，常温下以10个小时左右的半衰期被氧化。加冠卟啉Fe(II)的氧化反应可以在甲苯中进行试验。轴配位体与N-(三苯甲基)咪唑(N-(triphenylmethyl)imidazole)相结合，因空间位阻得到5配位络合物。据报道，此氧络合物的半衰期约为1小时。此外，生越等人(1975)，Ibers等人(1977)提出的多种模型，因篇幅所限只好割爱。正如3.1中已讨论过的那样，任何模型都是为了说明血红蛋白和肌红蛋白的功能与结构的某一方面而合成的，通过研究模型的积累，可以逐步加深对血红蛋白和肌红蛋白的理解。

血蓝蛋白的模型化合物

血蓝蛋白(Hc)在2.3中已概略地作过介绍。它与上述的血红蛋白、肌红蛋白不同，既没有X射线分析的数据，又不了解其活性部位2个Cu周围的确切情况。但是具有载氧功能的铜络合物的发现，堪称一个重要的生物无机化学课题。在10年或5年以前*，还没有考虑到与O₂作可逆结合的铜络合物，最近二三年间陆续发表了这类模型络合物的有趣报道。我们从Osborn等人的模型开始讨论(图3-11)。

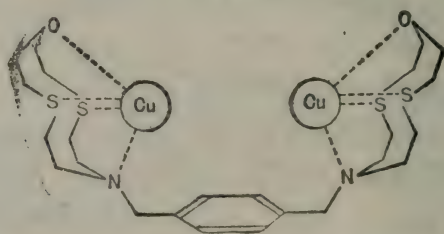


图 3-11 1,4-双-(1-氧杂-4,10-二噻烷-7-氮杂十二烷-7-亚甲基)苯的铜络合物

* 即1968年或1973年以前。——译者

由图可见，配位体 1,4-双-(1-氧杂-4,10-二噻烷-7-氮杂十二烷-7-亚甲基)苯 (1,4-bis-(1-oxo-4,10-二噻烷-7-氮杂十二烷-7-亚甲基)苯) (简称 L) 具有柔软的几何灵活性，2 个 Cu 之间保持 0.25~0.5nm 的间距。因此，可以推测在 2 个 Cu 之间具备捕捉住 O₂ 的可能性。2 个 Cu 配位原子以各种形式与 (N) (O) (S)₂ 相配置。脱氧型 Hc 中的铜以 Cu(I) 的形式，氧化型 Hc 的则可能以 Cu(II) 形式 (参见 2.3)，在与 O₂ 结合或解离的过程中，即使 Cu 的配位环境有若干变化，但已形成的络合物本身不会被破坏。图 3-11 的模型由于很灵活，所以不论是易于生成正四面体结构的 Cu(I)，还是易于生成平面正方形结构的 Cu(II)，都同样地形成络合物。[Cu(I)]₂L 的硝基甲烷溶液中通入 CO，使 CO 与之结合；将此溶液于 80℃ 时通入 Ar 则放出 CO。此外，固体状态的 [Cu(I)]₂L·[BF₄]₂·丁烷-2-酮，加入 O₂ 即成为淡绿色粉末。在真空中将此氧结合物加热到 110℃，则放出 O₂，又恢复为原来的白色状态。氧化和脱氧化不论反复多少次，均不分解。

被氧化了的固体状态物质呈淡绿色，在溶液中尚不能确定其细节，与理想的血蓝蛋白模型相距甚远。如前所述，可以认为在这个络合物中实现了与 O₂ 的可逆结合的功能，适当地配置这两个 Cu，可以得到 2:1 型的 Cu₂(O₂) 络合物。

2 个 Cu 原子保持着适当的 (0.4~0.6nm) 间隔，它们为 1 价或 2 价，这种络合物的模型不只限于 Osborn 设计的一种，这类结构的多核络合物大致能满足血蓝蛋白模型的第一条件。为使其具有适宜于 Cu 与 O₂ 可逆结合的氧化还原电位，要选择合适的配位原子。为了解决这样的问题，Lehn 提出多核窝穴化合物 (cryptate)。图 3-12 给出两个典型例子。

生成满足要求的圆筒状大环双核窝穴络合物的模式如图 3-13。遗憾的是，在图 3-12 的 Cu 络合物中还不能确定同 O₂ 或 CO 是

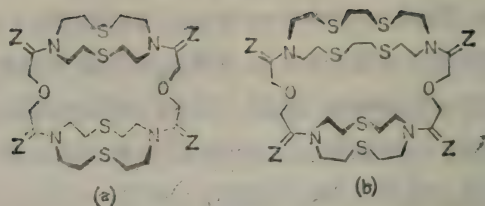


图 3-12 Lehr 的大型环状配位体举例)Z = H₂ 或 O)

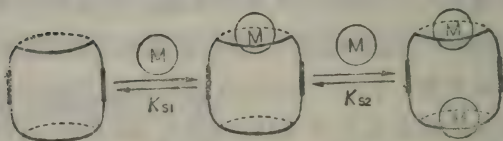


图 3-13 圆筒状大环双核窝穴化合物中进入金属离子的模式

否可逆性结合。但是观测到加进 O₂ 或 CO 后，光谱发生较大变化，特别有趣的是图 3-12a 的 2Cu(II) 络合物中加入 KO₂ 后，它的光谱与 2Cu(I) 络合物通入 O₂ 后所得生成物的光谱十分相似。

最近，Wilson 报道了在室温下 O₂ 可与其固体，也可与其溶液作可逆结合的 Cu(I) 络合物 (Wilson 模型)。它是通过图 3-14 所示的途径获得的单核 Cu(I) 络合物，其配位体包含 2 个咪唑，1 个吡啶和 2 个乙基亚胺配体的一共 5 个 N。与 Osborn、Lehn 等的模型不同之处即此 N₅ 配位特征。

络合物 4 以红色固体 [Cu(I)bimp]ClO₄ 的形式分离出来，在脱氧的乙腈、DMF、DMSO 溶液中均可以单体形式存在。但若将 DMSO 溶液在 O₂ 气氛中暴露，则 2 摩尔 Cu 吸收 1 摩尔 O₂，立即由红色变为绿色。这种变化是可逆的，在 40℃，维持微热并通入 N₂，同时搅拌，则又恢复至红色。这种氧化与脱氧化，每循环

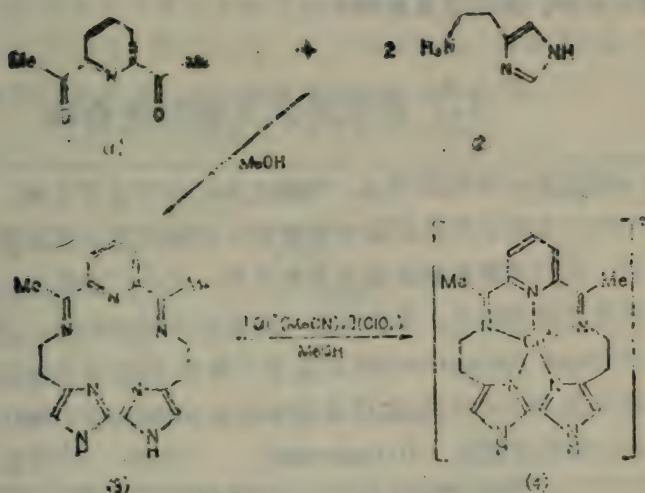


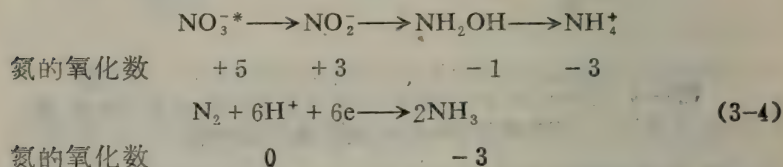
图3-14 双-2,6-[1-(2-咪唑-4-亚乙基亚胺基)乙基]-吡啶-铜
(I) 离子(Cu(I)bimp)₂的合成途径

一次，O₂的吸收量平均减少约20%，可以一连6个循环观测到O₂的吸收，以后就变为茶色而失去吸收O₂的能力。除DMSO以外，即使在乙腈、DMF、吡啶或2,6-二甲基吡啶溶液中，在室温下与O₂也有可逆的结合，但这种结合速率因溶剂不同而异。有报告作了溶剂的比较：乙腈≈DMF≈DMSO(1~2分钟) > 吡啶≈2,6-二甲基吡啶(5分钟)。上述现象在固体状态下进行非常缓慢，红色络合物4的粉末，在1个大气压O₂气氛中至少要1个小时才会完全变成绿色。绿色物质在减压下于60℃可以复原为红色物质，这时不完全成为反磁性，每个铜原子的有效磁矩只恢复至1.2BM左右。与O₂结合的绿色体的结构推测是Cu(II)O₂⁻Cu(II)，但它的电子光谱、ESR谱，同oxy-Hc有一些差异。通过该模型只能在一定程度上认识血蓝蛋白的结构。但是，提出的这些模

型，无论是在溶液中，还是固体状态，都能与 O_2 进行基本上可逆的结合，这一意义是很大的。

3.3 固氮酶及其模型化合物

我们在一开始就讲过，维持生命的材料分子之中，氮是不可缺少的。生物必须从环境中获取氮。动物所需的氮来源于植物，植物一般以硝酸盐和铵盐为氮的来源。其中，硝酸盐经过下列步骤最终还原为铵盐。某些细菌（固氮菌 *azotobacter*，巴氏梭菌 *dostridium pasteurianum*）以及许多藻类，吸收游离的氮，可最终还原成氨，如(3-4)式。这就是氮的固定(nitrogen fixation)，担任固氮的酶即固氮酶(nitrogenase)。



固氮酶

固氮酶是对氧极不稳定的酶。纯化以后可以得到含有 Fe、Mo 的蛋白质以及仅含有 Fe 的蛋白质。前一种蛋白质的分子量约为 200000，是由两类的亚基各 2 个组成的四聚体。这四聚体中含有 2 个钼原子和多个铁原子，以及与铁数目相同的无机硫（参见 2.4）。Fe 与 S 如同铁氧还蛋白那样以原子簇形式存在。后一种蛋白质，即仅含铁的蛋白质，分子量为 55000~680000，是由两个同类的亚基组成的二聚体。二聚体中有 4 个 Fe 原子，并含有

• $\text{NO}_3^- \longrightarrow \text{NO}_2^-$ 的还原过程中，NADPH 是还原剂，以含有 Mo 的黄素酶为催化剂，也有以细胞色素体系为还原剂，通过钼铁蛋白酶来催化的过程。这些酶称为硝酸还原酶。

相同个数的无机硫原子。Fe与S也与MOFe蛋白一样，以铁氧还蛋白那样的原子簇形式存在。MOFe蛋白与Fe蛋白，各自分别不表现出活性，两者合在一起才显示活性。固氮酶除了N₂外，也还原乙炔和腈，以及其它多种底物（表3-1）。

表 3-1 固氮酶对各种底物的还原作用

底 物		生成物	还原电子数
氮分子	N ₂	2NH ₃	6e
一氧化二氮	N ₂ O	N ₂ + H ₂ O	2e
叠氮离子	N ₃ ⁻	N ₂ + NH ₃	2e
乙 炔	C ₂ H ₂	C ₂ H ₄	2e
乙 腈	CH ₃ CN	CH ₄ + CH ₃ NH ₂	6e
水合氢离子	2H ₃ O ⁺ *	H ₂ + 2H ₂ O	2e

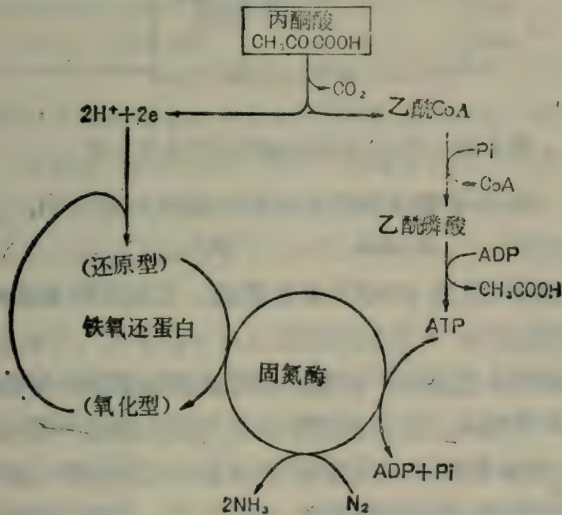


图 3-15 固氮酶表现活性时丙酮酸的作用模式

• 原文遗漏“2”。——编者

如图 3-15 所示, 表现活性的过程必须有丙酮酸参与, 通过它能供给固氮时必需的还原力(还原型铁氧还蛋白)与能量(ATP)。众所周知的 Haber-Bosch 法由 N_2 生成 $2NH_3$ 的反应伴随 ΔG 的减少为 7.95 千卡/摩尔 (33.3 千焦耳/摩尔), 似乎还原不需要外加能量。但实际上需要考虑活化能。假设氮分子还原是按以下的过程进行的, 其中间体连二亚胺必然是极不稳定的 (图 3-16)。

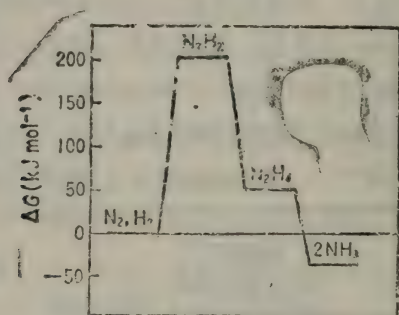
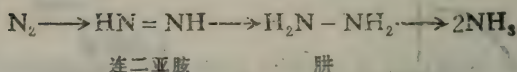


图 3-16 氮分子还原过程中的自由能变化



与这些事实相关联, 也许 ATP 是必需的。尤其是固氮酶的还原途径尚未弄清。

由于目前许多情况尚不清楚, 因此理解固氮酶的结构和功能十分困难。尽管如此, 采用模型体系进行研究还是可能的。这是因为 MO、Fe 和多种过渡金属与 N_2 的反应, 其配位部位已研究清楚。金属配位的 N_2 比起游离的 N_2 活性更大。这意味着, 金属配位使游离的 N_2 获得了意想不到的反应性。如果在固氮酶的作用机理中, MO 和 Fe 也同样地与 N_2 配位, 发生与模型体系相同的变化, 那么, 研究模型的意义就更大了。这就是所谓固氮

酶的模拟研究。

以氮分子配位的金属络合物

首先研究一下用 N_2 配位的金属络合物。现在已知有许多例子，选择几个有代表性的列于表 3-2。

表 3-2 典型的 N_2 配位络合物

络合物	IR. ν_{N_2} (cm^{-1})
$[Ru^{II}(NH_3)_5(N_2)]Cl_2$	2130
$[Os^{II}(NH_3)_5(N_2)]Cl_2$	2010
$[Os^{III}Br_2(N_2)(PMePh_2)_3]$	2090
$[Co^0(N_2)(PPh_3)_3]$	2093
$[Co^I H(N_2)(PPh_3)_3]$	2094
$[Fe^I H(N_2)(Ph_2P-CH_2-CH_2-PPh_2)_2]^+$	2090
$Mo^0(N_2)(PPh_3)_2 \cdot (Ph-Me)$	2005

N_2 与金属的结合形式与 3.2 中讲过的氧载体相同，也分竖型 (end-on) 和横型 (side-on) 两种，但是分离出来的几乎全是竖型。从表 3-2 的红外吸收数据可见，这些氮络合物的由 $N-N$ 伸缩振动引起的强红外吸收都在 $1900 \sim 2000 cm^{-1}$ 的范围，同游离的 N_2 分子的 $2331 cm^{-1}$ (拉曼光谱) 相比，已较大程度上向低波数一端移动了。从金属 d 轨道向空的反键 π^* 轨道进行的电子反馈，提示 $N-N$ 间的键级是比较低的。事实上，由氮络合物的 X 射线分析结果来看， $[CoH(N_2)(PPh_3)_3]$ 及反-- $[Mo(N_2)_2(Ph_2P-CH_2-CH_2-PPh_2)_2]$ 的 N_2 分子核间距为 $0.110 nm$ ，比游离 N_2 的 $0.101 nm$ 要大得多。 N_2 在两个金属之间的桥式结构如表 3-3 所示， ν_{N_2} 向低波数一端移动，更加活化。在两种金属间有 N_2 桥键的这种络合物，和固氮酶 (Fe 与 MO) 作一比较是特别有趣的。

氮络合物的配位氮分子果真是经过质子化而还原成氮的吗？

表 3-3 几种氮桥络合物

络合物体系	桥 键	$\nu_{N_2} (cm^{-1})$
$ReCl(N_2)(PMe_3Ph) + TiCl_3$	$Re-N_2-Ti$	1805
$+ CrCl_3$	$Re-N_2-Cr$	1890
$+ MnCl_3$	$Re-N_2-Mo$	1850
$+ MnCl_4$	$Re-N_2-Mo$	1795
$+ MnCl_4$ (过量)	$Re-N_2-Mo$	1680

代表性的例子反- $[Mn(N_2)_2(Ph_2P-CH_2-CH_2-PPh_2)](1)$ 的反应示于图 3-17

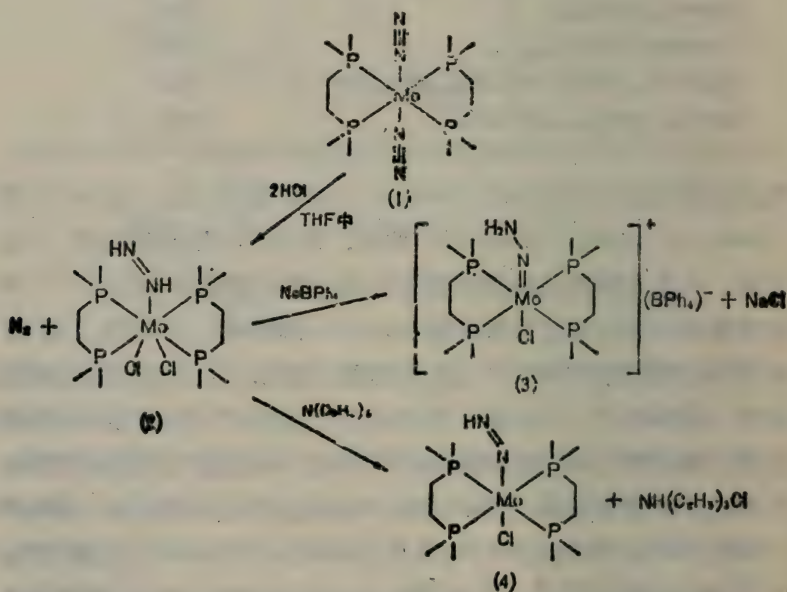
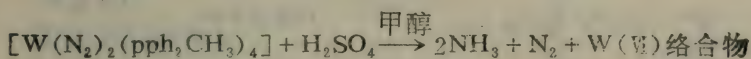


图 3-17 反- $[Mn(N_2)_2(Ph_2P-CH_2-CH_2-PPh_2)]$ 的配位氮的反应途径

1 在 THF 等有机溶剂中与 HCl 反应，放出一分子 N_2 而生成 2。由 2 的结构式可以看出配位氮已被质子化而生成连二亚胺。2 与四苯硼酸钠 ($NaBPh_4$) 反应生成络合物 3。这时，2 的配位物连二亚胺变成胂。同样，2 也可与 $N(C_2H_5)_3$ 作用，得到 4 那样的连二亚酰胺型络合物。选用反- $[W(N_2)_2(pph_2CH_3)_4]$ (也可以 Mo 代替 W) 作为起始物质，在甲醇中用硫酸处理，依下式变成 NH_3 的反应，值得注意。



但遗憾的是，这类化学反应对解决实际固氮酶的功能与结构问题，不会有多大的启发。从这个角度讲，人们感兴趣并给予一定评价的是 Schrauzer 模型。

Schrauzer 的固氮酶模型化合物

Schrauzer 以 Mo 的 Cys 络合物 1 和铁硫原子簇 2 作为固氮酶的钼蛋白和铁蛋白的模型。它们的水溶液中加入还原剂 $Na_2S_2O_4$ ，在室温下通进 N_2 ，就生成 NH_3 。推测其反应机理如图 3-18。

首先 Mo 以横型与 N_2 配位，质子化后生成连二亚胺，通过歧化反应形成胂和 N_2 。胂再被还原型钼 $[Mo(red)]$ 还原成氨，将电子供给配位氮而变成氧化型钼 $[Mo(ox)]$ ， $Mo(ox)$ 被铁硫原子簇 $[Fe_4S_4(SR)_4]^{4-}$ 和 ATP 还原，再复原为 $Mo(red)$ ，与下一个 N_2 配位。同时，将 $Mo(ox)$ 还原为 $Mo(red)$ 而自身被氧化为 $[Fe_4S_4(SR)_4]^{4-}$ 的 $[Fe_4S_4(SR)_4]^{2-}$ 可用 $S_2O_3^{2-}$ 还原。 $Mo(red)$ 被认为是 $Mo(IV)$ 状态。应该说这是很好的模型体系，但其反应机制大多是推测的，所以不能说图 3-18 的整个过程是完全正确的，这点应引起注意。例如，认为 N_2 在 $Mo(red)$ 上按横型配位的看法，是由乙炔的还原机理类推而来，事实究竟如何尚难断定。暂且撇开这点不谈，Schrauzer 模型与固氮酶在许多方面具有共同的特

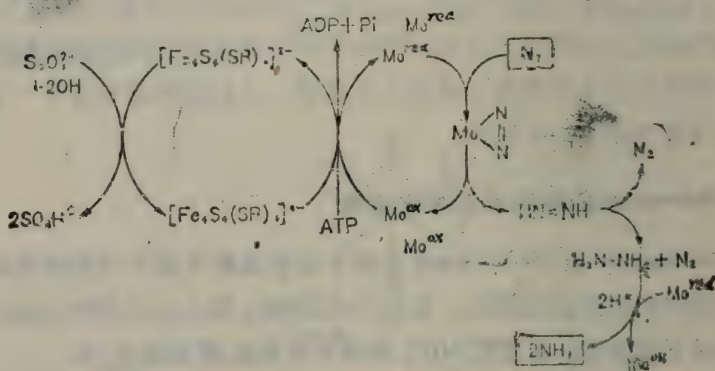
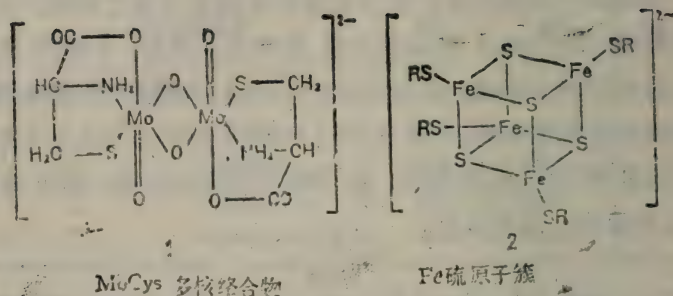


图 3-18 Schrauzer 固氮酶模型反应机理

征。表 3-4 是两者的比较。

如在 3.1 中所述，通过模型研究乃是理解生物体系的一种方案。Schrauzer 模型是 Schrauzer 提出的方案，他假定固氮酶活化 N_2 的部位在 Mo，只含 Fe 的蛋白质仅起电子传递系统的作用。但是有一处疑问，即含有 Mo 的蛋白质内也含有 Fe，而该 Fe 与 Mo 的 N 配位没有关系。最近正致力于固氮酶活性中心结构的研究。但是，为了在分子水平上阐明反应机制，还需要进行更多的模型研究。

最近，已经在半个固氮酶的含 Mo、Fe 的蛋白质中，分离出

表 3-4 固氮酶与 Schrauzer 模型对照

	固 氮 酶	Schrauzer 模型
金属	Mo, Fe, Mg	Mo, Fe*, Mg*
Mo 的配位体	蛋白质-Cys-S-(?)	Cys-S ⁻ , RS ⁻
ATP 效应	+	+ *
电子传递系统	非血红素铁, 铁氧还蛋白	铁氧还蛋白模型*
还原剂	S ₂ O ₄ ²⁻ , BH ₄ ⁻	S ₂ O ₄ ²⁻ BH ₄ ⁻
最适 pH	7~8	7~10
乙炔还原最大速度 (摩尔/摩尔 Mo·分)	200	1.7
以乙炔还原速度为基 准的 N ₂ 还原相对速 度	0.25	0.25
还原底物	HC≡CH, N ₃ ⁻ , N ₂ O, N ₂	CH ₃ CN, RCN

• 不是必需的

含有 Mo—Fe—S 的辅因子, 这就为解决固氮酶的功能与结构的课题带来了希望。这种辅因子的组成为 Mo:Fe:S = 1:8:6, 还原乙炔的能力为固氮酶活性的 8%, 同时, 与固氮酶一样, 被 CO 抑制。作为辅因子的模型, 正按照人们的希望去合成, 如 [Mo₂Fe₈S₆(SC₂H₅)₆]³⁻, [MoFe₈S₈(SPh)₆]³⁻ 等 (图 3-19)。

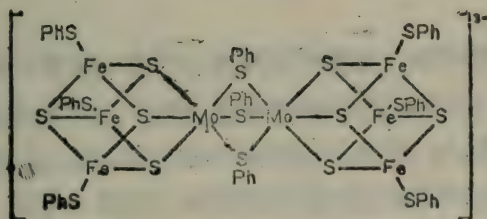
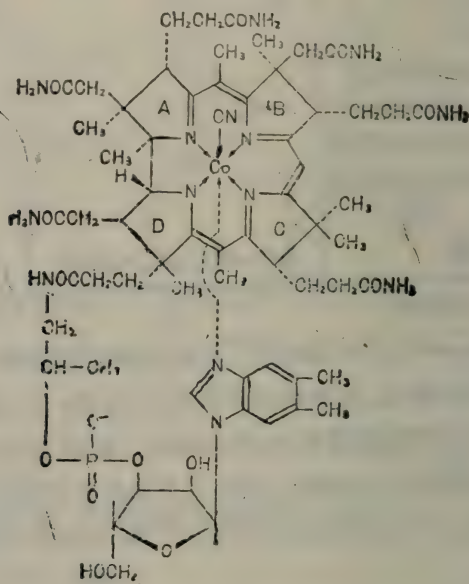


图 3-19 MoFe 原子簇

3.4 维生素B₁₂辅酶及其模型化合物

维生素B₁₂是B族维生素之一，具有较强的抗恶性贫血作用。其结构如1所示。它是由带有许多取代基的咕啉（corrin）核与核苷酸所组成。



1

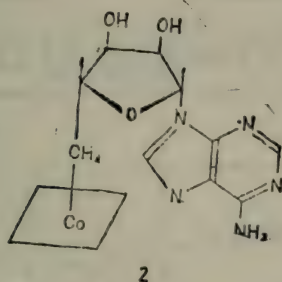
氰钴胺

核苷酸含有 α -糖苷键，与从核酸得到的不同（参见1.3）。已经查明咕啉核（如1所示）与卟啉核不同，两个A、D吡咯环直接结合，所以变形较大，而且存在着分子内空间排斥，故呈稍弯曲的结构。咕啉核的中央为Co(III)与环内4个N原子配位。Co(III)又在轴向上，与5,6-二甲基苯并咪唑的N和氰离子CN⁻配位。因此，以Co(III)为中心配位对称，基本上是六配位正八面体，没

有特别异常的性质。轴配位体之一的 CN^- 可经一定操作而分离出来。除掉 CN^- 的整个结构称为钴胺素 (cobalamin)。所以, 维生素 B_{12} 又叫做氰钴胺。以 OH^- 、 H_2O 、 ONO^- 代替 CN^- , 则分别称为羟钴胺素、水钴胺素、(亚)硝(酸)钴胺素。它们都已得到分离。也发现有核苷酸残基碱基部分不同的类似物。例如在 1 的 5, 6-二甲基苯并咪唑腺用嘌呤、2-甲基腺嘌呤, 或鸟嘌呤等代替, 也属于维生素 B_{12} 类似物*。

维生素 B_{12} 辅酶

维生素 B_{12} , 除具有营养作用外, 最重要的是具有辅酶的功能。氰钴胺本身表现辅酶活性的酶反应尚未发现, 但是, 钴-5'-脱氧腺(嘌呤核)苷基类咕啉 2 做为辅酶而参与的反应, 已知有多种, 如表 3-5, 均为伴随着氢转移的异构化反应。已知的前

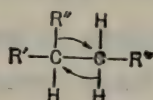


钴-5'-脱氧腺(嘌呤核)苷(基)类咕啉(与 1 相同的部分省略)

述水钴胺素或更为广泛的水类咕啉做为辅酶, 也参与了各种甲基转移反应, 如表 3-6 所示。与维生素 B_{12} 类似物有关系的酶反应大致有二种, 即伴随氢转移的异构化反应和甲基转移反应。

• 或名假维生素 B_{12} 。——译者

表 3-5 钴-5'-脱氧腺(嘌呤核)苷(基)类咕啉参与辅酶的各种反应



酶	R'	R''	R'''
谷氨酸变位酶 (glutamate mutase)	H	CH(NH ₂) COOH	COOH
甲基丙二酸单酰 CoA 变位酶 (methylmalonyl-CoA mutase)	H	COCOA	COOH
二醇脱水酶 (dioldehydrase)	CH ₃ H	OH NH ₂	OH OH
甘油脱水酶 (glycerol dehydrase)	CH ₂ OH	OH	OH
乙醇氨脱氨酶 (ethanolamine deaminase)	H	NH ₂	OH
赖氨酸异构酶 (β-lysine isomerase)	H	NH ₂	CH ₂ CH (NH ₂) CH ₂ COOH

表 3-6 水合咕啉参与辅酶的各种反应

酶	反 应
甲硫氨酸合成酶 (methionine synthetase)	5-CH ₃ -THFA* + → THFA + (1)
乙酸合成酶 (acetate synthetase)	C ₁ ** + CO ₂ → CH ₃ CO ₂ ⁻ (2)
甲烷合成酶 (methane synthetase)	C ₁ ** → CH ₄ (3)

* THFA: 四氢叶酸

** C₁: 甲基的前体

钴-5'-脱氧腺(嘌呤核)苷(基)类咕啉即维生素 B₁₂ 辅酶, 其结构中腺苷与钴间的结合为 Co—C σ 键。用试剂将分子内其他部分的联系切断, 此键却不受影响, 是极好的稳定有机钴

化合物。此键稳定的主要原因是，配位体上咕啉环特有的电子。详细研究了 B_{12} 辅酶的模型化反应之后，出乎意外地发现了许多含有稳定的 $Co-C$ 键的络合物，可见这并非仅限于咕啉环配位体。 B_{12} 辅酶作用的本质示于图 3-20 和图 3-21，其特点在于与 $Co-C$ 的 σ 键有关

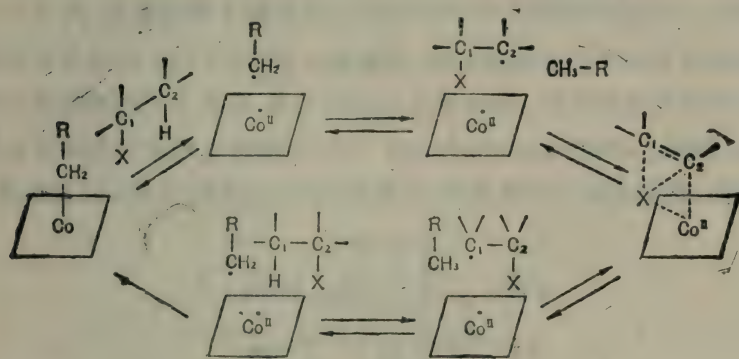


图 3-20 伴随氢转移的异构化反应的推断机理（自由基反应机理说）

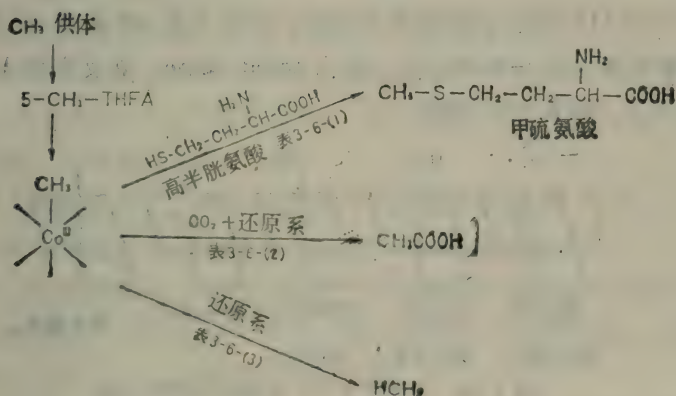
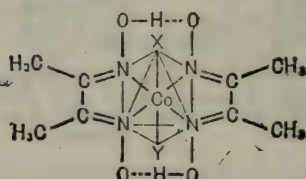


图 3-21 甲基转移反应

维生素B₁₂转酶模型化合物

Co—C 键稳定化的必要条件是什么？对各种钴络合物烷基化反应进行研究后，发现在 Co 的平面上必须有适当强度的配位场，而轴配位体的作用不大。这里着重讨论 Schrauzer 等人的维生素 B₁₂ 模型化合物和双（丁二酮肟络）钴（Ⅲ）络合物 3* [bis(dimethylglyoximate)cobalt(Ⅲ)]。由结构 3 可以看到，两个丁二酮肟离子在两处形成 O—H…O 氢键，并与 Co(Ⅲ) 相结合成为平面环状四齿配位体。配位原子也是四个 N，实质上与咕啉核颇为相似。事实上 cobaloxime 与类咕啉一样，在轴向上结合有各种有机配位体，表现为稳定的络合物，还原后则由 Co(Ⅲ) 转变到 Co(I) 状态。

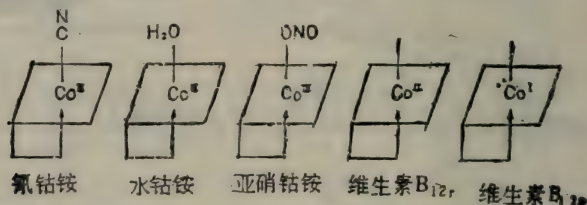


3

Cobaloxime 示例

X: CN⁻ Y: 吡啶

Co(I) 状态必然对氧很敏感，只能在高 pH 条件下存在。在酸性溶液中分解产生氢，成为 cobaloxime，其反应性与维生素 B₁₂S (图 3-22) 相同。

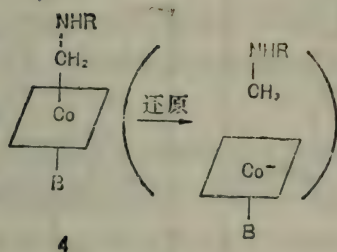
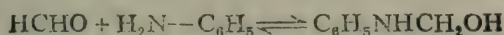


维生素 B₁₂ 维生素 B_{12r} 维生素 B_{12s}

图 3-22 与维生素 B₁₂ 有关的几种化合物

• 略称 cobaloxime。

如前所述，甲基钴氨素在由高半胱氨酸生物合成甲硫氨酸的过程中，发挥辅酶作用，甲基钴脲 (methylcobaloxime) 也同样将高半胱氨酸甲基化。在分子氢这样的还原剂存在下，诱导甲醛与胺的 N-甲基化，这是维生素 B₁₂ 辅酶与钴脲共同的功能。这种反应的中间体 4 已分离出来。4 还原之后，有可能最终生成 N-甲基。

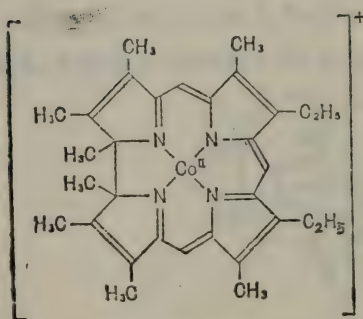


从模型上看，钴脲与维生素 B₁₂ 辅酶有相似处，这可由 X 射线分析的结果确定。即，平面内 Co—N 与轴向的 Co—C 的原子间距很接近。最大的不同点是，钴脲为平面状的环，与此相反，B₁₂ 的咕啉核在上方呈弯曲状，而且有侧链向上伸出。因此，相对地讲，钴脲是稳定的。

Dolphin 也由钴卟啉络合物合成了各种有机钴衍生物。但是，即使在维生素 B₁₂ 还原成 B₁₂S 即 Co(I) 状态的条件，也不能将钴卟啉还原为 Co(I)。咕啉与卟啉虽然具有类似的结构和生物合成途径，但在生物体内两种核却分别起不同的作用，这在考察生物进化上，也许是感兴趣的问题。

村上为了弄清楚维生素 B₁₂ 的催化功能与平面配位体效应间

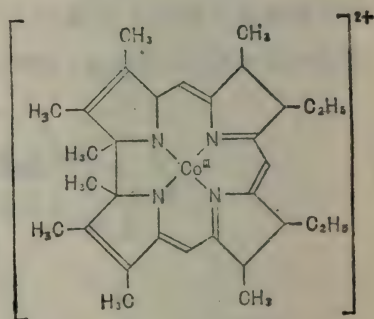
的关系,研究了咕啉核上增加 π 电子时中心钴的状态。研究的结果是,四脱氢咕啉钴(II)络合物 5 很容易还原为 Co(II) 状态,致使 Co(II) 的亲核性减弱,即使进行烷基化反应,也得不到 $\text{Co}-\text{C}$ 键。另外,适当增加了 π 电子数的 AD-双脱氢咕啉(BDHC)络合物 6,用 NaBH_4 还原为 Co(II)BDHC ,后者用溴代烷或碘代烷处理,则生成烷基化络合物。村上进一步指出,它的电子光谱与维生素 B_{12} 络合物的光谱很类似,AD 环外侧的 π 键与环内部的双键并非充分共轭的。换言之,弄清了 AB 双脱氢咕啉与咕



5

四脱氢咕啉钴(II)络合物

[tetrahydro corrin cobalt (II)]



6

AD双脱氢咕啉钴(III)络合物

[AD bi dehydro corrin cobalt (III)]

啉的电子数大致是相等的。

在 Co(II)BDHC 络合物的轴向上烷基化的速度,当烷基较小时,则与维生素 B_{12} 的速度没有什么差异,但当烷基变大时,这一速度下降。这说明 AD-BDHC 与咕啉仅在立体结构上有差别,在催化反应上,不仅表现在电子效应上,而且在平面配位体上取代基的立体效应也有重要的影响。钴胺素的结构 1 中,AD 两环直接联结,并有较多的取代基存在,看来这是适应需要的。

3.5 铜蓝蛋白的模型化合物

铜蓝蛋白在生物体内的重要作用在于：催化氧化还原、加氧反应等，以及构成光合成、氧化磷酸化的电子传递链等。这些已在 2.4 作过大致的介绍。在络合物化学领域中已积累了大量的有关铜络合物的基础知识，近年来以此为基础，研制出许多模型铜络合物以试图阐明铜蛋白活性中心的结构和功能。与血红蛋白不同，在铜蛋白的活性中心没有像血红素那样的辅分子簇，铜直接与蛋白质侧链以各种式样相结合。这一点很难在铜蛋白的分子水平上予以解释。因此，适宜的模型化合物对于研究生物体系特别有意义。以铜蓝蛋白为中心的模型研究是生物无机化学的重点之一。

最近，通过 X 射线分析已经弄清了质体蓝素结晶的结构（参见 2.4），这样的模型络合物用于研究是十分有效的，即，通过比较模型络合物的各种光谱或氧化还原电位与实物的光谱和氧化还原电位而推断出的铜配位结构，与用 X 射线分析而获知的活性中心结构很相近。

考察 2.4 中的表 2-9，除去几种铜蛋白、已经弄清在同一蛋白质内存在着不同类型的 Cu(II) 。在这种情况下，很难由模型低分子络合物推断出与蛋白质结合的 Cu(II) 的配位结构，同时也很难明确各个铜原子的作用。迄今研究过的大部分模型的络合物（如铜蓝蛋白、酪氨酸酶、血蓝蛋白等）是以通过只含有一种铜的蛋白质活性中心的模型再现实物作为研究目标的，尤其对于具有蓝铜特征的络合物的创建是占主要地位的。这样，以铜蓝蛋白为中心，探讨开发模型化合物，来推断结构并考虑模型的意义，就是科学工作者的方向。

由铜蓝蛋白的性质推断其结构

在每摩尔内含有 1 个蓝铜原子的质体蓝素,已由 X 射线分析确定,是四面体的 CuN_2S_2 配位结构(参见 2.4)。这种分析的例子还有天青精蛋白(azurin)、繁缕花青素(stellacyanin)等蓝铜蛋白,它们的化学性质以及吸收光谱、CD 光谱、MCD 光谱、共振拉曼谱、ESR 谱、ESCA 谱等均已研究清楚。将它们与各种模型化合物比较、研究,推断其活性中心是四面体结构,由咪唑、肽 N^- 、半胱氨酸 S^- ,或蛋氨酸 S ,以 CuN_3S 或 CuN_2S_2 方式与 Cu(II) 配位。质体蓝素、天青精蛋白、繁缕花青素的 Cu(II) 被 Co(II) 置换时,比较它们的吸收光谱,发现 600nm 附近的强吸收是由于电子从半胱氨酸 S 到 Cu(II) 的跃迁吸收所致,推断置换的 Co(II) 占据对称性非常低的部位。脱辅基质体蓝素、脱辅基天青精蛋白中的 Co(II) 可进入 Cu(II) 的部位,表明 Co(II) 的配位环境和 Cu(II) 一样。还发现铜蓝蛋白在近红外区有弱吸收带,这是由于四面体结构的 $d-d$ 跃迁所致。 Cu(II) 的配位结构从平面形转变为四面体形,这与畸变四面体型的铜(II)络合物的 ESR 光谱同铜蓝蛋白一样表现出极小的 $|A_{||}|$ 值这一事实相吻合;氧化还原电位 E_0' 随着从平面结构的转变也增大,这也与四面体结构不矛盾。

关于配位体的资料也很多。通过以下实验确认在活性部位上存在半胱氨酸:即,用 SH 试剂——对氯高汞苯甲酸(PCMB)处理脱辅基蛋白时, Co(II) 或 Cu(II) 都不能进入结合位置。从 Cu(II) 结合前后的 X 射线电子光谱的变化可以证明有 $\text{Cu(II)}-\text{S}$ 键的存在。将质体蓝素、天青精蛋白的还原型 $[\text{Cu(I)}]$ 以及脱辅基蛋白质进行 ^1H NMR 光谱测定,从组氨酸咪唑核 C(2) 质子的化学位移对 pH 的函数关系而得到的氧解离常数,表明 2 个咪唑核与 Cu(II) 相结合。在这一基础上再以红外光谱、共振

拉曼光谱的研究相配合，还发现肽链或侧链的酰胺基 N^- ，有可能与 $Cu(II)$ 配位。

图 3-23 示关于由菜豆 (*phaseolus vulgaris*) 得到的质体蓝素而设计的活性中心模型。其结构为四面体 Cu (咪唑)₂(肽N)S 型，反映出由研究得到的各种结论，饶有趣味。另外，通过模型化合物的电子光谱的详细研究而推断得到的结构如图 3-24 所示，这个结构的不同处是酪氨酸的 O^- 代替了肽 N^- 。

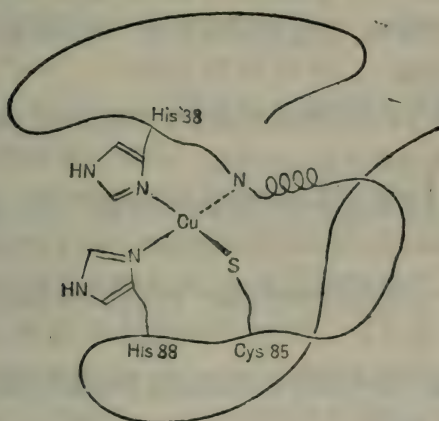


图 3-23 菜豆质体蓝素的活性中心结构模型[E. I. Solomon, J. W. Hare, H. B. Gray, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 1389 (1976)]

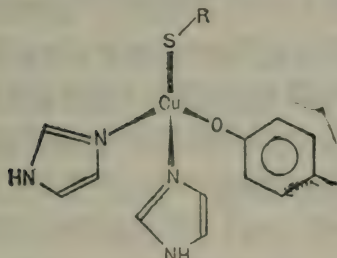


图 3-24 蓝铜部位的推断结构[A. R. Amundsen, J. Whelan, B. Bosnich, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 6730 (1977)]

由白杨叶得到的质体蓝素的结构，与这个推断结构相比较，十分接近。不过，蛋氨酸 S 代之以肽 N^- 或酪氨酸 O^- 这一点，是从所得到的支持这些推断的资料和在繁缕花青素中不含蛋氨酸等事实中归纳出来的结果，或许除了质体蓝素、天青精蛋白之外，还存在着可能表现与蓝铜部位的性质。

模型络合物的研究

从模型低分子络合物到对活性中心结构的研究，是根据由天然试样得到的资料，通过模型络合物，使其结构、性质上的特征得以再现，也即：

(i) 利用 $Cu(II)$ 周围发生变形的配位体，来比较对其 ESR 参数、吸收光谱强度造成的影响；

(ii) 利用以硫醚 S 为配位体的络合物，研究其吸收光谱、氧化还原电位；

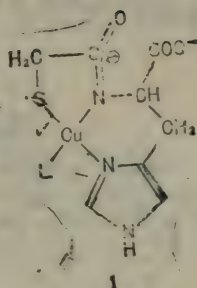
(iii) 合成所希望的配位体，研究由它们配位的络合物的性质。

总之，最重要的就是将蓝铜的特异性质在模型上再现。以下是几个研究的例子。

有咪唑核 N 与半胱氨酸 S 配位的 $Cu(II)$ ，如前所述，它有 600nm 处的强吸收带，这一吸收是由于电子由 $p(S) \rightarrow d(Cu)$ 的跃迁所致。因为在 $Cu(II)$ 的络合物中，尚不能以硫醇 S 为配位基取得适当的模型化合物，所以杉浦首先合成了带有 SH 基的化合物 α -巯基丙酰甘氨酸及其类似物，成功地分离出它与 $Cu(II)$ 的络合物。已经查明由于 S^- 的导入，造成吸收强度增大和 $|A_{11}|$ 减小。兼有 SH 基与咪唑核的 N-巯基乙酰组氨酸，同 $Cu(II)$ 的反应形式，通过吸收光谱、CD 光谱、ESR 谱以及 1H NMR 谱得到了研究。发现反应生成物在 438nm 和 598nm 处有 $\epsilon = 970$ 和 830 的强吸收带。由所获的各种信息，推测生成的络合物的结构

如 1。

在 Cu(II) 上有 S^- 与咪唑 N 同时配位作为活性部位模型，是极有趣味的。没有咪唑基的 α -巯基丙酰甘氨酸在 400nm (SH) 与 605nm ($\epsilon = 260$) 处有吸收。通常， Cu(II) 与 SH 基反应，被还原为 Cu(I) ，而 SH 成为二硫化物 $\text{S}-\text{S}$ 。这些络合物都以 Cu(II) 的状态存在，这与肽键 N^- 成平面结构的趋势很强有相当大的作用。1 的 $|\text{A}_{11}| = 93 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$ ，与铜蛋白的值相

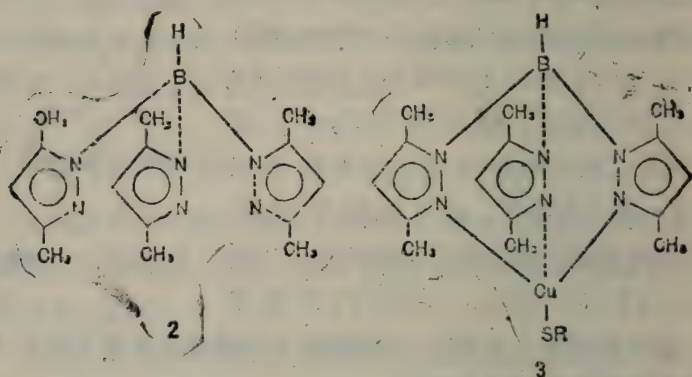


L: H_2O ; 咪唑

近。这个模型络合物暗示，半胱氨酸 S 与咪唑 N 参与了配位，可以说是对以前各种推测的证实。

根据推测，蓝铜部位是畸变的四面体形结构。横井、坂口、Addison 详细研究了四面体的畸变对 Cu(II) 的 ESR 谱的影响，得知由各种配位体产生的 CuN_4 、 CuS_4 等多种形式，无论哪一种， Cu(II) 的配位平面都随着变形为四面体而有增大 g_{11} 和减小 $|\text{A}_{11}|$ 的倾向。将四面体形的 $[\text{Cu(I)}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{ClO}_4$ 用 γ 射线照射而得到的 $[\text{Cu(II)}(\text{CH}_3\text{CN})_4]^{2+}$ 的 ESR 谱具有特异的参数，说明结构影响 ESR 谱。为了解释形成畸变四面体的原因，以配位体氢化三(3,5-二甲基-1-吡唑基)硼酸 $[\text{HB}(3,5-\text{Me}_2\text{PZ})_3]$ [hydrotris(3,5-dimethyl-1-pyrazolyl) boric acid] 2 为例。Thompson 将它与对硝基苯硫醇 (p-nitrobenzene thiol) ($\text{RS}-$) 的铜(I) 络合物反应，合成了不稳定的混合配位络合物 $\text{K}[\text{Cu(I)}(\text{HB}(3,5-\text{Me}_2\text{PZ})_3)(\text{SR})]$ 3，并予以 X 射线结晶分析。还用 $[\text{Cu(II)}(\text{SR})]\text{ClO}_4$ 合成了铜(II)的络合物。RS- 为对硝基苯硫基时，该络合物有 588nm 处、 $\epsilon \approx 3910$ 的吸收，同时 $g_{11} = 2.286$ ， $g_1 = 2.067$ (漆树的繁缕花青素为 2.287, 2.051)，说明它具有与铜蛋白相近的数值。但是， $|\text{A}_{11}|$ 值 ($171 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$) 很大，就这一点来说，它尚不

能成为最佳模型。这是因为络合物的结构为上下稍伸展的四面体，导致在配位体场的强度和对称性上与铜蓝蛋白不同。



另一个供研究用的模型是为了进行铜蓝蛋白高氧化还原电位的研究。Rorabacher等人研究了大环状以及链状多硫醚或链状多氨基硫醚的铜(II)络合物的吸收光谱，并测定了它们的氧化还原电位，得知多硫醚在 600nm 附近出现 $\epsilon \approx 2000$ 的吸收带，半波电位 $E_{1/2}$ 为 0.8 伏左右 (表 3-7)。它的稳定常数 K 为 $10^2 \sim 10^3$ 。

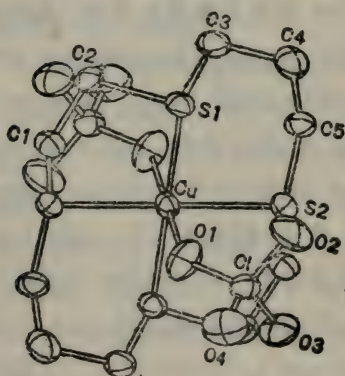




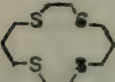
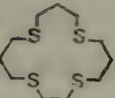
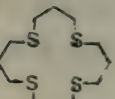
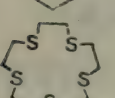
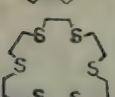
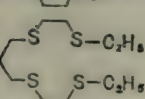
图 3-25 $\text{Cu}(14\text{-ane-S}_4)(\text{ClO}_4)_2$ 的结构

1,4,8,11-四噻环十四烷 (14-ane-S_4) (1,4,8,11-tetra thia cyclotetradecan) 的 X 射线分析结果 (图 3-25) 显示这种络合物为四角形。因此，Rorabacher等人得到这样的结论，即，平面变形并不是表现蓝铜的光谱及氧化还原性质所必需的。他们还测定拉曼光谱，推测蛋氨酸的 S 参与配位，而对于没有蛋氨酸的繁缕花青素为二硫化物 S-S 与 Cu

(II) 配位。这种研究的优点在于尽管采用的化合物与生物体系无关，但却可以由此推断生物体系的配位形式。应该说，采用模型来研究，还是有意义的。

表 3-7 Cu(II) 多硫醚络合物的性质*

80W/W% 甲醇-20W/W% H₂O, 25℃, 离子强度 0.1 (HClO₄)

配位体	稳定常数 (K)	λ_{\max}	ϵ_{400}	λ_{\max}	ϵ_{400}	$E_{1/1}$ (mV)
	2.4×10^3	387	6.0×10^3	675	2.0×10^3	728 ± 10
	2.7×10^2	390	6.0×10^3	625	1.8×10^3	674 ± 10
	3.1×10^3	390	8.2×10^3	570	1.9×10^3	689 ± 10
	2.3×10^3	414	8.0×10^3	565	1.14×10^3	785 ± 9
	9	440	6.1×10^3	603	0.8×10^3	798 ± 15
	9.8×10^2	414	$\sim 7 \times 10^3$	565	$\sim 2 \times 10^3$	865 ± 10
	—	420	$\sim 7.1 \times 10^3$	545	$\sim 1.4 \times 10^3$	805 ± 10
	14	410	6.8×10^3	612	1.1×10^3	892 ± 10

*T. E. Jones, D. B. Rorabacher, L. A. Ochrymowycz, J. Am. Chem. Soc., 97, 7485 (1975); E. R. Dockal, T. E. Jones, W. F. Sokol, R. J. Engerer, D. B. Rorabacher, L. A. Ochrymowycz, ibid, 98, 4322 (1976)

3.6 生物化学中引人注目的 络合物及其反应

本书的 3.2 至 3.5 已提及各种生物活性中心的模型，它们是生物无机化学的研究方法之一。这一节则叙述前面未处理的反应络合物化学特别是生物化学上各有趣的侧面。尽管许多侧面未必在本质上与酶相似，但是在结构上、机制上却相当可靠，而且大多具备酶促反应的特征之一——选择性。生物无机化学的范畴也包含这些研究内容。

肽的选择性断裂

动物从外界摄取的蛋白质被各种具有特异性的水解酶水解，成为更小的肽单位，然后再被分解成氨基酸而被吸收。催化肽键水解反应的酶也有各种功能性特征。例如具有切断 N 末端氨基酸残基功能的酶称为氨肽酶。与此相反，能将 C 末端的氨基酸切断的称为羧肽酶（参见 2.4）。在已知的简单的低分子络合物中，也有具有这种相应功能的络合物。

使 N 末端氨基酸残基断裂的络合物

三乙撑四胺(trien)的 Co(III)络合物 1 经过图 3-26 所示的机制，促进紧靠 N 末端的肽键水解。即，在 pH7.5 (65°C) 时，1 与肽链在水溶液中反应，如 3-5 式所示，仅有 N 末端的氨基酸残基联合到 trien 络合物中去，剩下的肽链被切断而分离出来。由(3-5)式以及图 3-26 所示的机制，可以看出 1 与氨肽酶同样能选择性地使 N 末端的氨基酸残基水解。但是 1 与酶不同，不显示反复作用，因为断裂的氨基酸作为配位体而组入络合物中，所以失去了化学催化剂的功能。除了 trien，还有顺式双乙二胺络合物 2 和 tren 即 2,2',2''-三氨基三乙胺的 Co(III)络合物 3，都具

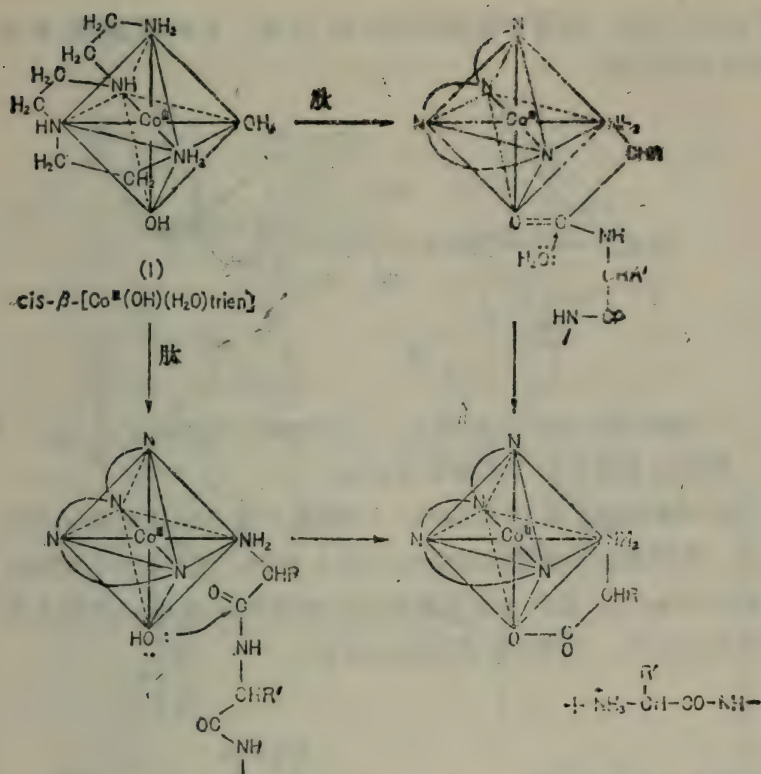
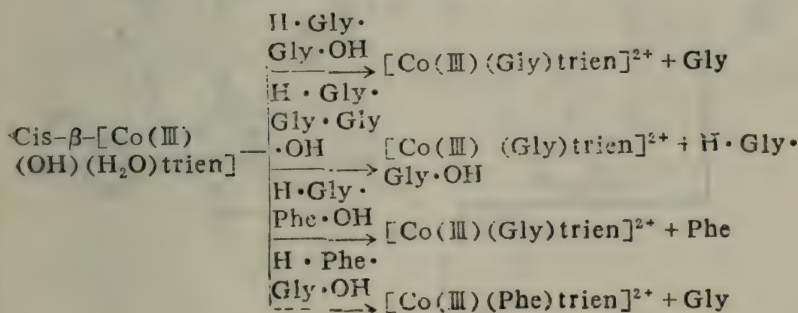
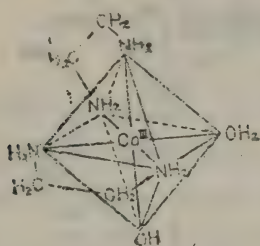


图 3-26 $\text{cis-}\beta\text{-[Co(III)(OH)(H}_2\text{O)trien]}$ 水解肽的机制



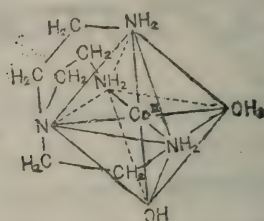
(3-5)

有相同的功能，但是2伴随有副反应发生，3的反应效率比trien络合物差。



(2)

cis-[CoIII(OH)(H₂O)₂en₂]



(3)

[CoIII(OH)(H₂O)₂tren]

断裂N末端第二个肽键的络合物

双(水杨醛)铜(II)[Cu(II)(sala)₂]与Gly或与Gly·Gly反应，得到相应的西佛碱络合物(图3-27)。该反应不仅对Gly或Gly·Gly，对一般的α氨基酸或二肽也都可以进行。产物4是蓝绿色的结晶，5的钾盐是紫色的结晶

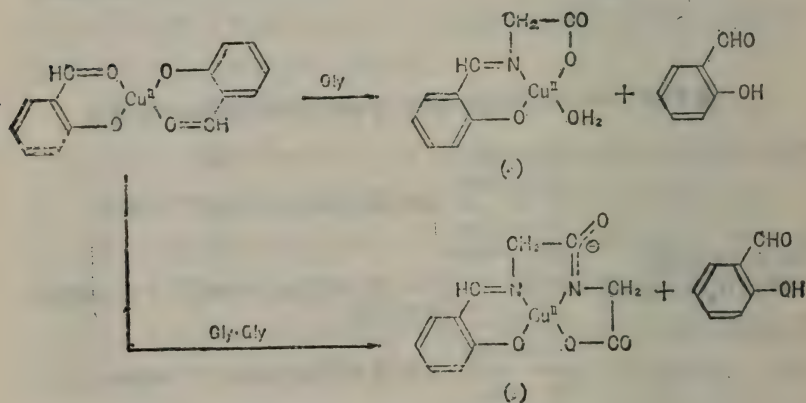


图 3-27 [Cu(II)(Sala)₂]与Gly、Gly·Gly的反应

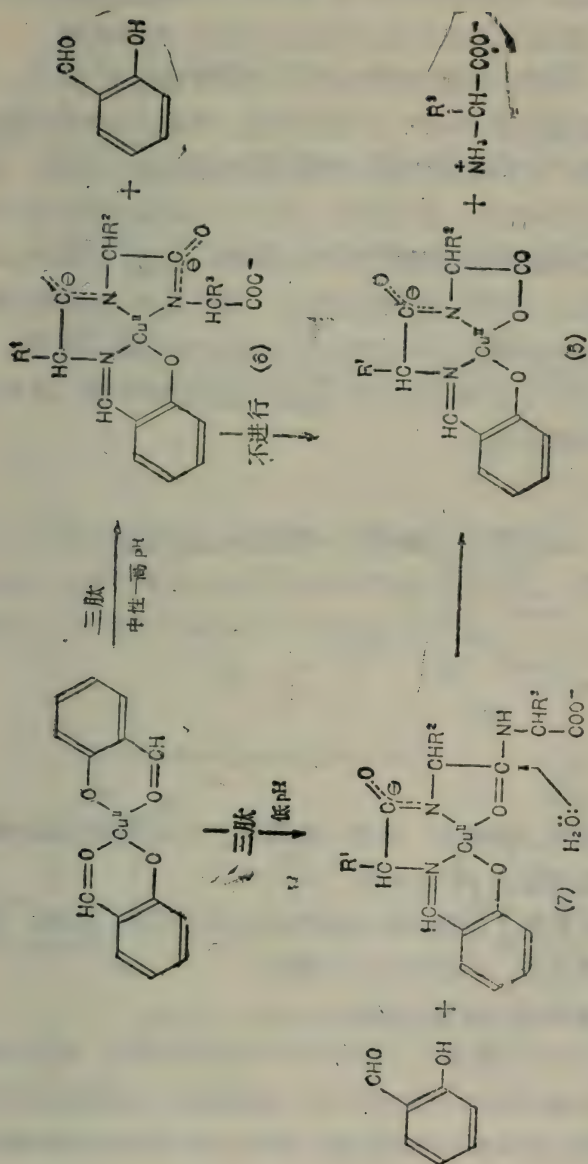
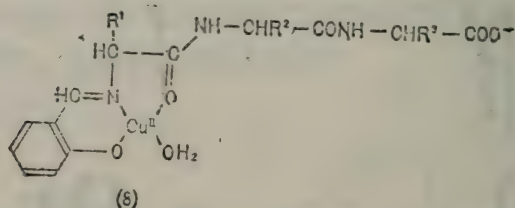


图 3-28 $[\text{CuII}(\text{Salal})_2]$ 与三肽的反应

同样, $[\text{Cu}(\text{II})(\text{Salal})_2]$ 对三肽也起作用。由于 pH 的不同而有不同的反应, 在低 pH (≈ 4.5) 时它的生成物包括 5 和氨基酸, 因此认为是自 N 末端的第二个肽键断裂的 (图 3-28)。

据报道, 金属络合物的配位体反应已研究得比较清楚, 图 3-28 中 7 的结构由于 $\text{Cu}(\text{II})$ 的极化作用, 使第二个肽键的碳的电子密度降低, 由于溶剂水分子的亲核进攻而促进了水解。与此相反, 在高 pH 条件下, 如 6 那样, 第二个肽键脱质子而带负电荷, 所以在它附近的电子密度并不十分低, 从而妨碍 H_2O 和 OH^- 的亲核进攻。这样, 仅在低 pH 时, 按照图 3-28 的机理可以清楚地看到 N 末端第二个肽键进行有选择的断裂。当然, 在 pH 更低的条件下, 在溶液中生成了 8 以及其它络合物, 这种选择性就得不到保证了。

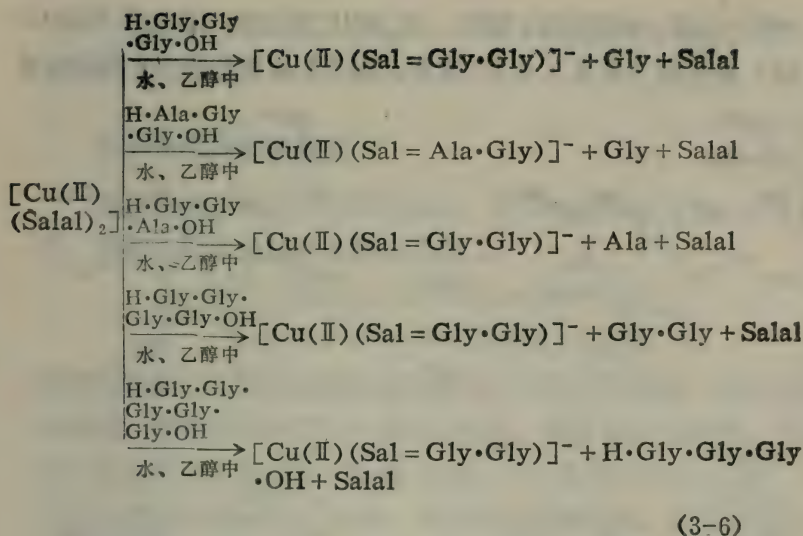


有报道认为, 能够单一地使 N 末端第二个肽键作选择性断裂的络合物, 其适宜的 pH 为 4.5。

(3-6) 式归纳了以各种肽为底物时的反应结果。注意, 这类反应也不是催化的, 而是按化学计量的。

从 N 末端第四个肽键的水解

在图 3-28 中已经表明, 三肽与水杨醛的西佛碱, 在高 pH 时形成的 $\text{Cu}(\text{II})$ 络合物 6 的肽键不能水解。同理, 甘氨酸肽占与 $\text{Cu}(\text{II})$ 或 $\text{Ni}(\text{II})$ 在高 pH 时的反应, 如图 3-29 所示, 由 N 末端到



第三个肽键不能水解。相反地，距离配位金属较远，质子未脱去的肽键，由于 pH 高，而可以全部水解。换言之，对于 OH^- 的亲核进攻， $\text{Cu}(\text{II})$ 保护了 N 末端的四肽键。

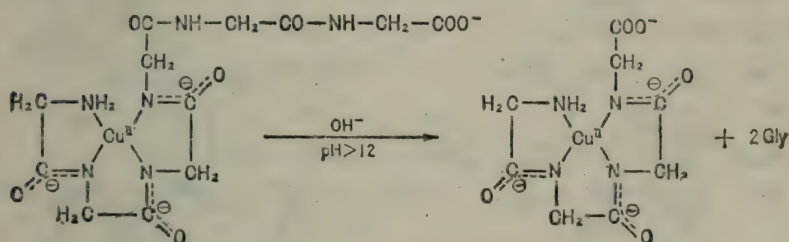


图 3-29 $\text{Cu}(\text{II})$ 周围的四肽键的水解

其它肽键的断裂反应

四-L-丙氨酸 $\text{Cu}(\text{II})$ 络合物在 pH6~9 时，以 2 当量的六氯铈

(IV) 处理, 如图 3-30 所示, 在 IrCl_6^{2-} 氧化的中间过程形成 Cu(III) 络合物 (参见 3.6.5)。这样, 作为配位体的四-L-丙氨酸被

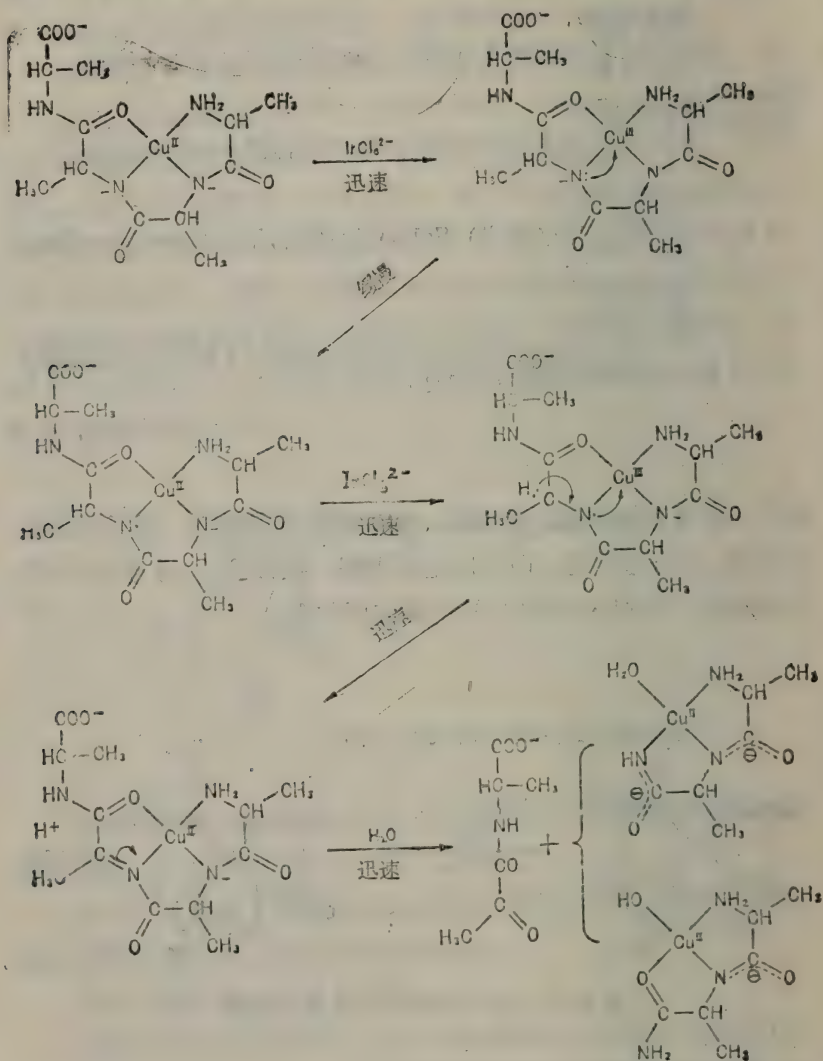
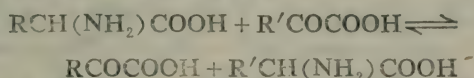


图 3-30 四-L-丙氨酸被 IrCl_6^{2-} 氧化与水解

氧化，通过形成自由基，最后由于氧化反映和水解，N末端的第三个氨基酸残基的N—C键断裂。

非酶性氨基转移反应

在生物体系中存在多种转氨酶，也即氨基转移反应的催化剂。转氨酶的辅酶就是磷酸吡哆醛。



磷酸吡哆醛以与脱辅基酶相结合的形式作用于氨基酸，使之转变成酮酸，磷酸吡哆醛则变为磷酸吡哆胺。逆反应亦可进行。并非特定的金属离子参与这些酶促反应，但很早即已知道*，在Cu(II)、Fe(II)、Fe(III)、Al(III)等金属离子存在时，即可以促进吡哆醛和吡哆胺引起的非酶性转氨反应（图3-31）。

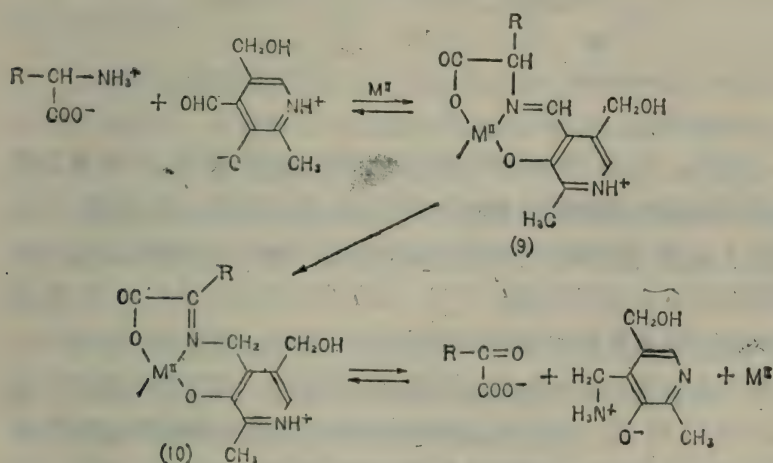
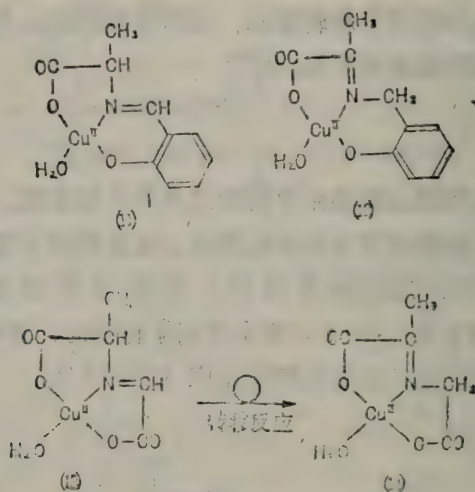


图 3-31 吡哆醛的非酶性转氨反应

* D.E.Metzler 等, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 979 (1952) ——译注

除吡哆醛及吡哆胺外的其它金属螯合物也存在这类反应。已经分离出来与图 3-31 的 9 相同螯合物骨架的 11 和与 10 相同螯合物骨架的 12。可是仅能确认有由 12 到 11 的转移反应的倾向。



此外，在 13 与 14 之间清楚地表现出转氨反应。13 是乙醛酸与丙氨酸的西佛碱的 Cu(II) 络合物。把它分解，即可得到游离的 14，即甘氨酸与丙酮酸的西佛碱的 Cu(II) 络合物。这一事实不能否定在溶液中生成了 13，但至少说明能以极高的收率迅速地进行转氨反应。估计在转氨反应过程中，西佛碱配位体中以 N 为中心的两个 C—N 键的性质是平均化的。对于难以发生转氨反应的 11 和 12，或更缺乏可能性的 β -丙氨酸·丙酮酸的西佛碱螯合物，在其 N 中心的双键与单键有着很明显的区别。此外，对于容易发生逆向转移反应的 13 与 14，已知以 N 为中心的两个 N—C 键的电子多少有些非定域化。表 3-8 是用 X 射线分析确定的那些以 N 为中心的两个 C—N 键的键长比较。13 不能分离出

来，因此在表 3-8 中没有数据，14 即与丙酮酸·甘氨酸的西佛碱相同的两个五员环的缩合环系，所以，C—N 键的键长也应该是相等的。自表 3-8 的数据看出这两个 C—N 键是最平均化的。或许这种两个五员环的缩合环系的结构有较大的变形，因此，使不稳定型的 13 诱导为稳定型的 14，

表 3-8 西佛碱 Cu(II) 络合物中偶氮甲酰胺的 C—N 键

络 合 物*	缩合环系	键长 nm		键长之差nm
[Cu _{II} (Salal = Gly) H ₂ O] · $\frac{1}{2}$ H ₂ O	6.5	0.128	0.145	0.017
[Cu _{II} (Salal = Gly) H ₂ O] · 4H ₂ O	6.5	0.130	0.146	0.016
[Cu _{II} (Pyv = Gly) H ₂ O] · H ₂ O	5.5	0.131	0.143	0.012
[Cu _{II}) Pyv = β-Ala) H ₂ O] · 2H ₂ O	5.6	0.125	0.148	0.023

* 例如，Salal = Gly 是水杨醛与甘氨酸的西佛碱，Pyv = β - Ala 是丙酮酸与 β-丙氨酸的西佛碱。

吡哆醛与缬氨酸的西佛碱的络合物[Mn(pyridoxal = val)₂]也已分离成功，有其结晶 X 射线分析结果的报道。这里值得注意的是两个 C—N 键的键长分别为 0.145 和 0.127nm，其差值为 0.018nm，也即与表 3-8 中水杨醛·甘氨酸的西佛碱大致相符。由于缩合环系都是由六员环和五员环组成的，很相似，所以这是当然的。

此外，若为水杨醛时，如在讨论 11 和 12 的关系时同样，几乎不发生转氨反应。但若是吡哆醛，这反应就很容易进行，可以认为是由于吡哆醛结构上特有的吡啶氮的缘故。

因此 11~14 的 Cu(II) 络合物绝不能算是吡哆醛辅酶 的模型。11~14 表现的转氨反应是由缩合环系结构变形所引起的。尽管如此，这种非酶性转氨反应可以应用于实际的合成反应，因此，这也是在生物化学上令人感兴趣的络合物反应之一。

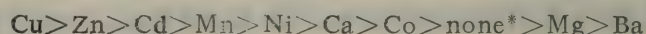
利用金属络合物使 ATP 水解

ATP 即三磷酸腺苷，它的生成过程是在厌氧或好氧条件下酵解葡萄糖，尔后在好氧性细胞线粒体中进行三羧酸循环（参见 2.4），并且不断进行呼吸链的氧化磷酸化反应。其他的途径则是由糖、脂肪酸、氨基酸等能源物质的分解所产生的化学能量，与 ADP 的磷酸化偶联而生成 ATP。因此，ATP 是贮存能量的分子。将 ATP 水解，变成 ADP 与磷酸 P_i 时，则放出能量。

生物体内的各种重要物质的生物合成，以及肌肉收缩、主动运输（参见 2.5）等所需要的能量是由 ATP 供给的。例如，肌肉收缩、ATP 水解时，就有肌球蛋白 ATP 酶或肌动球蛋白 ATP 酶等的参与。但是，现在对 ATP 水解的酶反应机理很难从分子水平予以说明。

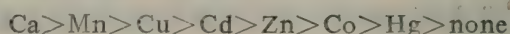
现将从各种金属离子以及金属络合物的角度来研究 ATP 非酶水解的结果概述如下：

Tetas 等人曾报道，在 pH5 时，具有 ATP 水解活性的二价金属离子的活性顺序如下：



其中 Cu 较没有金属离子存在时促进水解的能力大 60 倍，Zn 则大 12 倍。

在 pH 9 时，该顺序变为：



它们的活性比 pH5 时普遍降低。即 Ca 为无金属离子时的 9.4 倍（为 pH5 时 Cu 活性的 1/28），Cu 7 为倍。

水解产物在 pH5 时的实验中，有 ADP、AMP 和 P_i ，因为没有 PP_i （即无机焦磷酸），所以说明发生的分解反应为

* none 是无金属离子时



在 pH9 时, 由于有 PPI , 所以也发生 $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{PPI}$ 的反应。

Schneider 报道, 在这些金属离子存在下 ATP 的水解反应的速度如表 3-9。

表 3-9 二价金属离子对 ATP 水解反应的相对速度

	none	Mg	Ca	Mn	Co	Ni	Cu	Zn
ATP	1	4.5	7.5	3.5	3.2	4.5	530	16
MTP*	1	2.5	8.9	6.0	3.6	3.2	10	4.7
pH	8.0~	6.7~	6.7~	6.6~	6.6~	6.6~	5.3~	6.2~
	8.4	6.9	6.9	6.8	6.8	6.8	5.5	6.4

* MTP = 甲基三磷酸, 金属(II) $2 \times 10^{-3} \text{mol dm}^{-3}$ ATP 或 MTP $1 \times 10^{-3} \text{mol dm}^{-3}$, 温度 50°C

在这里, pH 由于金属离子不同而未必一致, 所以不能直接比较, 但其大致的活性顺序为

$$\begin{aligned} \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Co} > \text{Ni}, \\ \text{Mg} > \text{Mn} > \text{Co} \end{aligned}$$

同 Tetras 的实验结果相比, 有若干差异, 这是因为实验条件不同, 因而并不算是错误。总之, Cu(II) 、 Zn(II) 确实是比其他离子的活性高。

Schneider 推断水解反应过程是形成了 CuATP^{2-} 络合物, 如图 3-32 所示。

在表 3-9 中所载 Cu(II) 对 ATP 与 MTP 的水解反应速度相差约 53 倍, 这或许是由于 ATP 的 γ -磷酸与腺嘌呤形成如图 3-32 的巨形螯合环, 而 MTP 则不能形成这类结构的缘故。据推断, ATP 的水解过程实际上是发生了 β -磷酸部分的构形变化, 以便可以直接或间接地与 Cu(II) 结合。

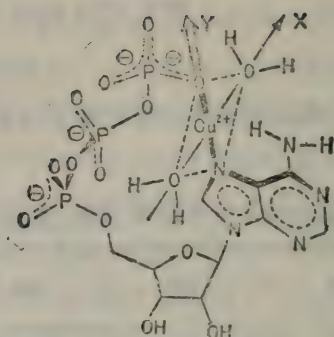
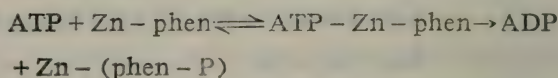


图 3-32 CuATP^{2-} 络合物 (Schneider 推断) 的结构

也有不用二价金属离子 (水合金属离子) 而是用其络合物使 ATP 进行裂解反应的报道。例如下式所示的例子, 菲罗啉的衍生物, 1,10-菲罗啉-2-甲醇 (简称 phen) 的 Zn 络合物与 ATP 形成了混合配体络合物, 其中 ATP 末端磷酸基向甲醇基方向转移。Zn 在这种反应中的作用是促进甲醇的脱质子而诱导形成 $-\text{CH}_2\text{O}^-$, 和



调整混合配体络合物的形态, 使它确定了 ATPY-磷酸部分和 phen 的 $-\text{CH}_2\text{O}^-$ 部分在立体结构上有着适宜的距离和方向 (图 3-33)。

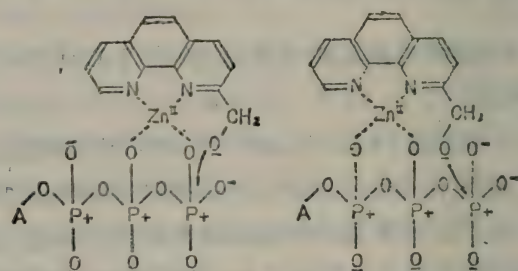


图 3-33 $\text{ATP}-\text{Zn}-\text{phen}$ 混合配体络合物的磷酸基转移反应的推断机理

也有用简单的 Co(III) 络合物对 ATP 进行水解反应的研究实例。在配位体置换上没有活性性质的 Co(III) 络合物，对于研究反应中间体结构，有利之处很多。铃木等人对此进行了如下研究。

图3-34中表示具有各种结构的 Co(III) 络合物是否有效地促进 ATP 水解。同时，除了对 $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ 水解反应的促进作用之外，也列举了对 $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{PPi}$ 反应的促进作用。像 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{en}_3]^{3+}$ 那样没有剩余配位位置的络合物根本不能促进 ATP 的水解。 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{tetraen}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ 由于其配位位置只有一个 H_2O ，所以对于更强的供体原子很容易形成结合部位。即在该络合物中，ATP 可以进行单配位基配位。但是，对于 $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ 的水解反应，也只不过是促进而已。 $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{DMG})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ 是两个二甲基乙二胺离子在平面上配位，2 个 $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ 氢键像巨型螯合环那样，可以有二个 H_2O 分子遥相对应着配位，逐出 H_2C 的 ATP 没有形成螯合物的可能性。这符合 ATP 的水解活性低，不变成 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{tetraen}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$ 的事实。

此外， $[\text{Co}^{\text{III}}\text{edda}(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ 、 $[\text{Co}^{\text{III}}\text{trien}(\text{H}_2\text{O})_2]^{3+}$ 中两个顺式位置恰好是允许 ATP 螯合配位的结构，反映出的特点就是水解性活性比较显著。但是，由于能同时促进 $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ 和 $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{PPi}$ 的水解反应，所以不能说它具有选择性促进作用。

与这些络合物相比， $[\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}(\text{H}_2\text{O})_3]^{3+}$ 对于 ATP 水解的促进作用是独一无二的，这是因为它仅仅选择性地促进将 ATP 水解成 ADP 和 Pi 的反应，且效率很高。 $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ 水解反应的速度常数是

$K_{\text{obs}} = 1.05 \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ ($t_{1/2} = 66 \text{min}$, $\text{ATP}: 1.00 \times 10^{-3} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, $\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}: 2.00 \times 10^{-3} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, $\text{pH} 4.0$, 温度 50°C) 较之在相同条件下不存在 Co^{III} 络合物时的 ATP 水解速度 ($K_{\text{obs}} = 7.1 \times 10^{-5} \text{min}^{-1}$)，加快了约 150 倍。根据水解时生成的反应活

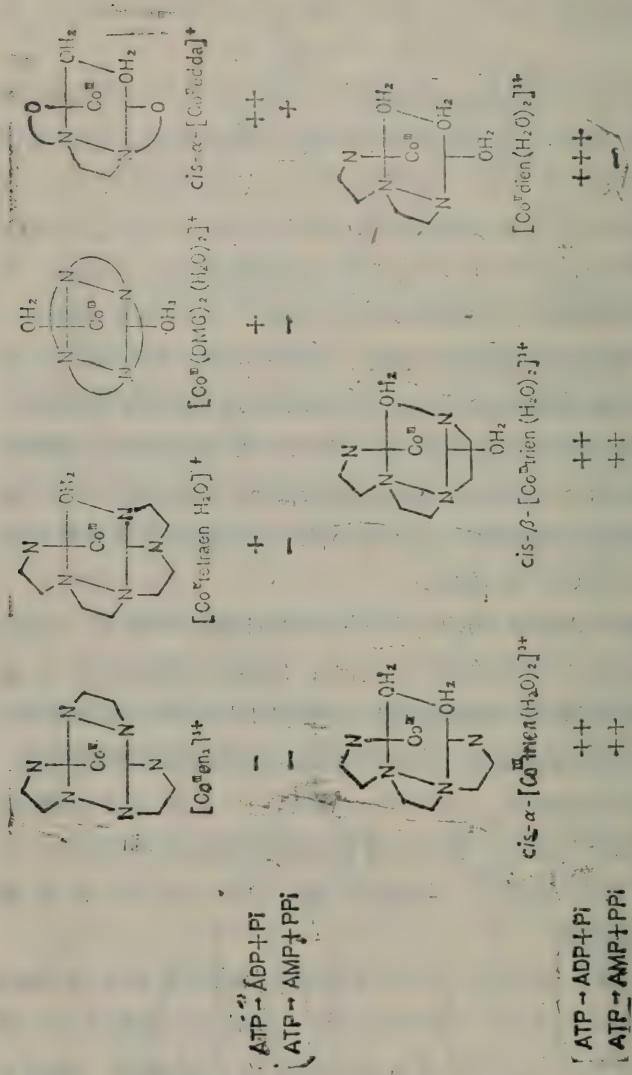


图 3-34 Co^{III}络合物的结构, ATP水解活性与选择性的比较
 活性: ++ > + > -
 无活性: -

性络合物的可见吸收光谱，CD 光谱的研究和 $\text{ATP}/\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}$ 之比同反应速度间的关系，推测其结构如图 3-35。

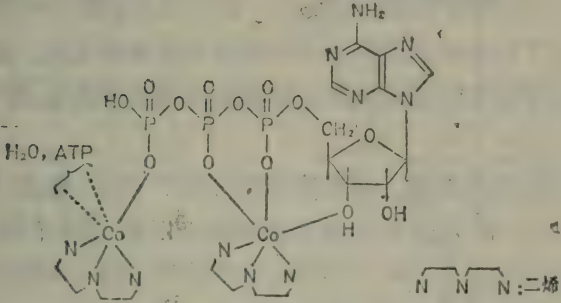


图 3-35 $\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}$ —ATP 反应络合物的推断结构

在 ATP 上结合有 2 个 $\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}$ ，在 γ -磷酸上结合的 $\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}$ 又与其它的 ATP 分子结合 ($\text{ATP}:\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+} = 2:3$)，在此机理的基础上，ATP 分子由于受到 2 个 $\text{Co}(\text{III})$ 的极化作用，提高了磷酸酯部分的磷原子的亲电子性；由于水分子的亲核攻击，磷酸酯键断裂。在 1 个 ATP 分子上结合了 2 个 $\text{Co}^{\text{III}}\text{dien}^{3+}$ ，由此彼此的正电荷相斥作用，ATP 的构象发生了变化，这也是促进水解的原因之一。

氨基酸金属络合物的立体选择性

组成金属酶活性中心的金属离子尽管形成了置换活性络合物，但它仍显示了底物特异性乃至立体特异性，说明这与金属离子周围的酶蛋白与底物的立体相互作用和非共价键性作用力有很大的关系（参见 2.2）。设想将能够造成这种相互作用的配位环境赋与由光学活性配位体所组成的置换活性小分子络合物，由于几

个配位体间的相互作用，就会表现出立体选择性。这种推测是很自然的。

对置换非活性的 Co^{II} 络合物，其络合时的立体选择性已有所了解。最近，通过导入易置换的氨基酸或在侧链上具有极性基及 pH 呈中性时带电荷的氨基酸，组成混合配位体的铜(II)络合物，研究了它的对映体的组合与络合物生成的关系，发现成络时其立体选择性与氨基酸的旋光异构体分离的可能性有一定的联系。

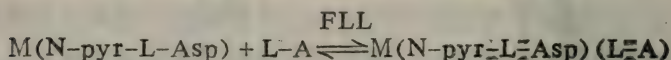
从平衡常数来看，立体选择性可由下列的稳定常数之差 $\Delta \log \beta$ 表示。以 A、B 代表两种氨基酸，以 M 代表金属离子，设络合物 $\text{M}_p(\text{H})_q(\text{L}-\text{A})_r(\text{L}-\text{B})_s$ 和 $\text{M}_p(\text{H})_q(\text{D}-\text{A})_r(\text{L}-\text{B})_s$ (电荷均略去不表示) 的稳定常数为 $\log \beta_{pqrsLL}$, $\log \beta_{pqrsDL}$ (参见 2.2)，则

$$\Delta \log \beta = |\log \beta_{pqrsLL} - \log \beta_{pqrsDL}|$$

据报道，不论是单一氨基酸，还是混合氨基酸都有这种立体选择性。以下举例说明混合氨基酸络合物。

Angelici 测定了 N-(2-吡啶基甲基)-L-天冬氨酸 N-pyr-L-Asp) [N-(2-pyridylmethyl)-L-aspartic acid] 和 N-羧甲基-β-(2-吡啶基)-L-丙氨酸 (N-cm-L-pyAla) [N-carboxymethyl-β-(2-pyridyl)-L-alanine]，与 L 或 D 缬氨酸、苯丙氨酸等多种氨基酸(A) 的混合配体铜(II)、镍(II) 络合物 $\text{M}(\text{N-pyr-L-Asp})(\text{L-或 D-A})_1$ 和 $\text{M}(\text{N-cm-L-pyAla})(\text{L-或 D-A})_2$ 的稳定常数 K_{LL} , K_{LD} 。

K_{LL} 是下列反应的平衡常数 (K_{LD} 也类似)。



$$\log K_{LL} = \log \beta_{1011LL} - \log \beta_{1010}$$

表 3-10、表 3-11 列出结果。

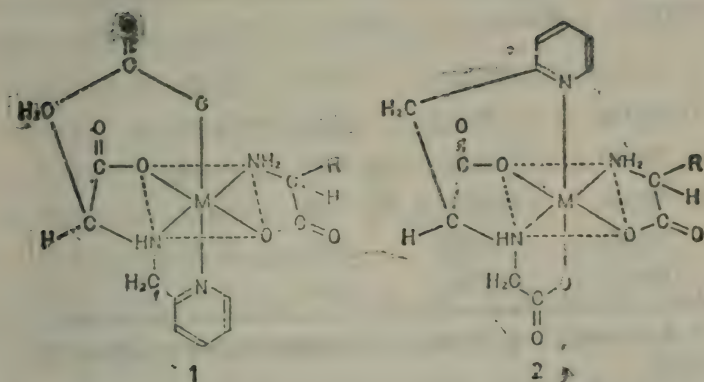


表3-10 Ni(II)或Cu(II)-N-(2-吡啶基甲基)-L-天冬氨酸的
立体选择性[25°C; $I = 0.10(\text{KNO}_3)$]*

金属离子	氨基酸(A)	$\log K_{LL}$	$\log K_{LD}$	$\log K_{LL} - \log K_{LD}$
Ni(II)	苯丙氨酸	3.54	3.44	0.10
Ni(II)	酪氨酸	4.02	3.93	0.09
Ni(II)	缬氨酸	3.67	3.59	0.08
Ni(II)	苏氨酸	3.76	3.72	0.04
Ni(II)	亮氨酸	3.73	3.74	0
Ni(II)	丙氨酸	3.73	3.72	0
Cu(II)	苯丙氨酸	3.93	3.83	0.10
Cu(II)	酪氨酸	4.94	4.83	0.11
Cu(II)	缬氨酸	3.99	3.93	0.06
Cu(II)	苏氨酸	3.84	3.85	0
Cu(II)	亮氨酸	4.12	4.13	0
Cu(II)	丙氨酸	4.04	4.03	0

* R. Nakon, P.R. Reciani, R.J. Angelici, *Inorg. Chem.*, 12, 2431 (1973)

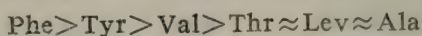
表 3-11 Ni(II) 或 Cu(II) -N-羧甲基-β-(2-吡啶基) L-丙氨酸的立体选择性[25°C, $I = 0.10$ (KNO₃)]*

金属离子	氨基酸(A)	$\log K_{LD}$	$\log K_{LL}$	$\log K_{LD} - \log K_{LL}$
Ni (II)	缬氨酸	3.51	2.95	0.56
Ni (II)	苯丙氨酸	2.98	2.72	0.26
Ni (II)	丙氨酸	3.09	2.84	0.25
Ni (II)	丝氨酸	2.92	2.71	0.21
Cu(II)	苯丙氨酸	3.72	3.59	0.13
Cu (II)	缬氨酸	3.65	3.69	-0.04

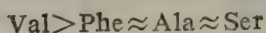
* S.A. Bedell, P.R. Rechani, R.J. Angelici, R. Nakon, *Inorg. Chem.*, 16, 972(1977)

由表 3-10 看出, N-pyr-L-Asp 与 Ni(II)、Cu(II) 的络合物与 L-A 优先结合, Angelici 以假设的结构 1 来说明这一现象。1 和 2 是 M 的配位形式, 均为反式。在 1 的情形, L-A 的侧链 R 由平面向上伸出, 与轴向配位的羟基没有明显的相互作用, 所以比 R 在平面的下方伸出的 D-氨基酸的稳定常数要高 ($\log K_{LD} > \log K_{LL}$)

(表 3-10)。但是, 对于吡啶核和羟基逆向的结构 2, L-A 中 R 与吡啶核之间的相互作用很强, D-A 的这类络合物则更稳定 ($\log K_{LD} > \log K_{LL}$) (表 3-11)。这种稳定性的差别源于侧链的立体空间障碍, 这可以从 $|\log K_{LL} - \log K_{LD}|$ 的数值在很大程度上依赖于侧链置换基这一点上来理解。也即, M(N-pyr-L-Asp)(A) 系统的稳定性依次为



L 构型的居先; Ni(II) (N-cm-L-pyAla)(A) 系统的稳定性依次为



D 构型的领先。

由于配位体侧链的静电相互作用, 产生了稳定常数之差

$\Delta \log \beta$, 例如 Brooks、Pettit 报道的含有组氨酸和碱性氨基酸(B)的铜(II)络合物。在中性 pH 范围内的赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸等 ω 位的碱性基团质子化后带有正电荷。这些氨基酸在此 pH 范围中是 α 位的氨基和羧基如甘氨酸那样的配位, ω 位的正电荷仍保持原来的状态。已测定了 L-B 和 L-或 D-组氨酸组成的混合配位体铜(II)络合物的稳定常数 $\log \beta_{1111}$ (质子化络合物) 和 $\log \beta_{1011}$ (脱质子化络合物)。质子化络合物 Cu(H)(L-His)(L-B) 与 Cu(H)(D-His)(L-B) (H 意即结合在 L-B 的 ω 位的质子) 之间的差值较小 ($\Delta \log \beta \approx 0.1$) (表 3-12)。与此相反, 脱质子化络合物 $\text{Cu(L-或 D-His)(L-B)}$ 的 $\Delta \log \beta = 0$, 非对映体之间没有差异。已知组氨酸作为三齿配位体, 可以与 Cu(II) 相结合 (参见 2.1), 所以 Brooks、Pettit 认为质子化络合物为顺式 3 和 4 的结构中, L-氨基酸之间的组合使其侧链的正、负电荷接近, 可能产生静电相互作用。相反地, L 型与 D 型组合时, 侧链在 Cu(II) 配位平面的上下两侧分开, 不存在这种相互作用, 因此导致了稳定性的差异。对于 1,2,4-二氨基酪酸, $\Delta \log \beta = 0$, 这是因为其侧链的相互作用仅仅存在但并不显著的缘故。脱质子化络合物由于失去了正电荷, 所以当然不会产生静电相互作用。

根据来自上述立体效应或静电性相互作用的立体选择性, 铜(II)络合物那样的置换活性络合物在形成过程中, 氨基酸的旋光异构体的分离似乎是可能的。通常稳定性之差 $\Delta \log \beta$ 小, 所以在溶液中非对映体分别以相同的比例存在着。将光学活性氨基酸络合物部分结合进高分子中, 采用配位体交换色谱法, 或利用非对映体之间的溶解度差, 分离选择性地组合进某种对映体的络合物, 这样就有可能进行旋光异构体的分离。

Rogozhin、Davankov 在苯乙烯-*p*-二乙烯苯 (styrene-*p*-divinylbenzene) 聚合物中导入 L-脯氨酸残基(5), 将此树脂填充在

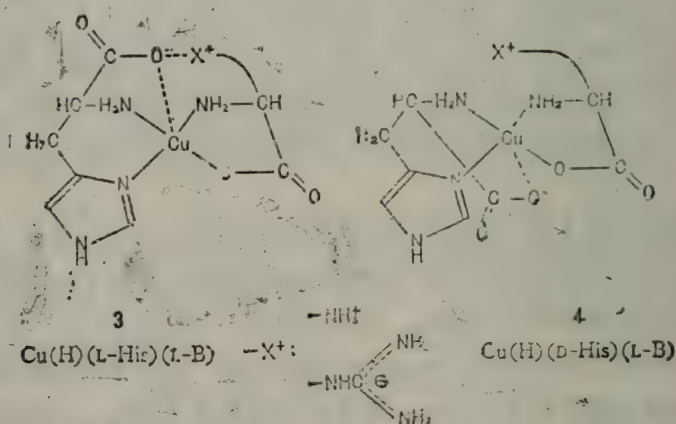
表 3-12 对于 $\text{Cu}_p(\text{H})_q(\text{L-或 D-组氨酸})_r(\text{L-碱性氨基酸})_s$ 系统的立体选择性

$[\text{25}^\circ\text{C}, I = 0.10(\text{KNO}_3)]^*$

碱性氨基酸	络合物种 (pqrs)	log Spars**		$\Delta \log \beta$
		L-组氨酸	D-组氨酸	
鸟氨酸	1111	27.493	27.393	0.12
赖氨酸	1011	17.25	17.24	0
精氨酸	1111	27.883	27.78	0.10
2,4-二氨基	1011	17.12	17.12	0
酪氨酸	1111	29.250	29.126	0.12
	1111	26.745	26.745	0

* G. Brooks, L. D. Pettit, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1975, 385, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1977, 1918

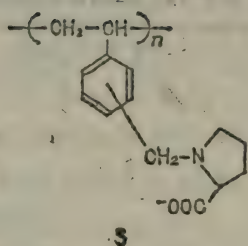
** 绝对误差均小于 0.02



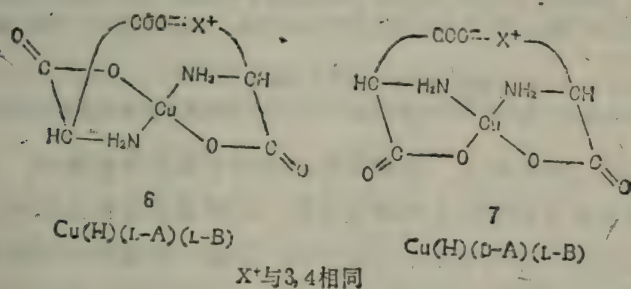
萃取塔中，用 CuSO_4 溶液处理后，注入 DL-脯氨酸，从洗出液中得到完全分离的 L-脯氨酸。若在萃取塔中注入 1N 氨水，可获 D-脯氨酸。据报道，同样的分离方法还可用于其他物质，表明立

体空间障碍是选择性的根据。

应用配位体侧链上静电性相互作用的实例有酸性氨基酸——天冬氨酸、谷氨酸 (A) 与碱性氨基酸 (B) 组成的混合配位的铜 (II) 络合物, 在该过程中将 A 和 B 进行了旋光异构体分离的研究。即, A、B 的侧链在中性 pH 条件下分别带有负、正电荷, 所以在形成络合物



物 $\text{Cu}(\text{H})(\text{A})(\text{B})$ 时, 发生分子内静电性相互作用, 由相互作用的空间位置, 推断出 $\text{Cu}(\text{H})(\text{L}-\text{A})(\text{L}-\text{B})$ 是反式结构 (6), $\text{Cu}(\text{H})(\text{D}-\text{A})(\text{L}-\text{B})$ 是顺式结构 (7)。因此, 对 DL-A 以 $\text{Cu}(\text{II}) : \text{DL}-\text{A} : \text{L}-\text{B} = 1:2:1$, 对 DL-B 以 $\text{Cu}(\text{II}) : \text{L}-\text{A} : \text{DL}-\text{B} = 1:1:1.5$ 的比例进行反应, 将络合物 $\text{Cu}(\text{H})(\text{A})(\text{L}-\text{B})$, $\text{Cu}(\text{H})(\text{L}-\text{A})(\text{B})$ 结晶而分离出来, 确定组入络合物中的各氨基酸的光学纯度 (表 3-13)。



由此弄清了作为光学活性氨基酸的 L-A 或 L-B 的加入, 首先在分离的络合物中, D-B 或 D-A 被优先组入。在水溶液中离子强度为 $0.1(\text{KNO}_3)$ 的条件下, 由于稳定性之差为 $\Delta \log \beta = 0$, 所以其旋光异构体的分离主要是由于非对映体间的溶解

度差异。

表 3-13 在混合氨基酸铜(II)络合物形成时立体选择性的获得^{a)}

DL-氨基酸	对方配位位	获得的 D-氨基酸的光学纯度(%)	
		分离了的络合物 ^{b)}	分离了的氨基酸 ^{c)}
DL-Asp	L-Arg	93	89
	L-Lys	79	89
	L-Orn	50	44
DL-Glu	L-Arg	42	33
	L-Lys	75	70
	L-Orn	39	35
DL-Arg	L-Asp	42	38
	L-Glu	46	41
DL-Lys	L-Asp	16	11
	L-Glu	56	50
DL-Orn	L-Asp	42	36
	L-Glu	12	17

a) (T. Sakurai, O. Yamauchi, A. Nakahara, *J. Chem. Soc., Chem Commun.*, 1976, 553; O. Yamauchi, T. Sakurai, A. Nakahara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 50 1776 (1977)).

b) 分离了的络合物是用 CD 光谱强度算出的值。

c) 络合物在分解中从离子交换树脂分离出来的氨基酸的比旋光度算出的值。

由以上例子可见, 表现模型体系的立体选择性条件, 主要是由于金属离子周围的各种相互作用。对复杂的生物体系中的选择性, 这种相互作用也是不可缺少的, 正如一些酶所表现出来的那样。

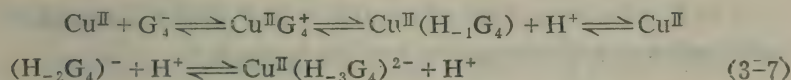
Cu(III)-肽络合物

铜通常是以 Cu(I) ($3d^{10}$) 和 Cu(II) ($3d^9$) 的状态存在, 在生物体系中至今被确认的铜络合物中也不外乎这两种状态。与此相

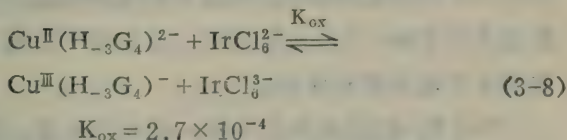
反, Cu(III) 为 $3d^8$, 它与 Ni(II) 为等电子态, 仅在 NaCuO_2 , KCuO_2 结晶中存在稳定, 但将它们溶解在水中时, 则马上分解而得不到稳定的水溶液。因此, Cu(III) 是不稳定的反应中间体。 Cu(II) 与缩二脲 $\text{H}_2\text{NCONHCONH}_2$ 反应, 得到脱质子化络合物 $\text{K}_2\text{Cu}(\text{NHCONHCONH})_2$, 将后者在碱性水溶液中用 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 氧化, 即生成稳定的 Cu(III) 络合物 $\text{KCu}(\text{NHCONHCONH})_2$, 相应的 Ni(III) 络合物也能同样生成。推测 Cu(III) 络合物是抗磁性, 为平面结构, 脱质子化的酰胺基氮 N^- 使 Cu(III) 状态稳定化。这些络合物不溶于水, 烷基可置换缩二脲, 该络合物在二甲亚砜中溶解, 可以进行各种光谱测定。

Margerum 在研究 Cu(II) -肽络合物的自动氧化中, 曾发现在水溶液中有稳定的 Cu(III) -肽络合物生成, 并研究了该络合物的各种性质, 了解到 Cu(III) 这一氧化状态比预料的要容易获得。

四甘氨酸 G_4 与 Cu(II) 在如下反应中, 随不同的 pH 环境, 将从若干肽基 $-\text{NHCO}-$ 中游离出质子:

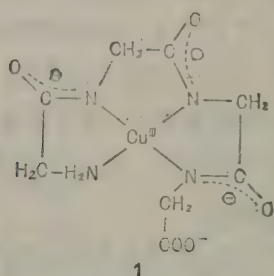


式中, $\text{H}_{-1}\text{G}_4^{2-}$ 、 $\text{H}_{-2}\text{G}_4^{3-}$ 、 $\text{H}_{-3}\text{G}_4^{4-}$ 代表脱质子化的 G_4 。用 IrCl_6^{2-} 将 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)^{2-}$ 氧化, 则定量生成 $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)^-$:

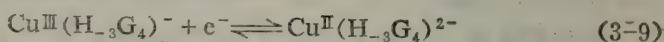


由于 IrCl_6^{2-} 的氧化作用, 基于 Cu(II) 的 $d-d$ 跃迁的吸收消失, 中性 pH 时在 365nm 处有属于 $\text{N}^- \rightarrow \text{Cu(III)}$ 电荷传递的强吸收 ($\epsilon = 7100$)。同时 ESR 光谱也消失。这种现象被认为是由于 Cu(III) 的生成。由式 (3-7) 可见, Cu(II) 络合物 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)^{2-}$ 的生成依赖于 pH, 式 (3-8) 反应也显示出它对 pH 的依赖性。即

由于 pH 的增大, 生成 $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)^{2+}$, 同时在 490nm 的 IrCl_6^{2-} 的吸收减少, 在 365nm 的吸收增大 (图 3-30)。这说明 $\text{Cu}(\text{III})$ 只有做为失去失去 3 个质子的 $\text{H}_3\text{G}_4^{2-}$ (1), 这一络合物才能存在。 $\text{IrCl}_6^{2-}/\text{IrCl}_6^{3-}$ 的氧化还原电位 (E^0) 为 0.89V。Margerum 得到的



$\text{Cu}(\text{III})$ 络合物的 $E^0 = 0.63\text{V}$ 。



$$E^0 = 0.63\text{V}$$

此值比 $\text{Fe}(\text{II})(\text{aq})/\text{Fe}(\text{III})(\text{aq})$ 的 0.77V 要低 0.14V, 在 N-配位基存在时可以非常容易地得到 $\text{Cu}(\text{III})$ 状态。

Kincaid 由共振拉曼光谱测定研究了波峰的归属问题, 认为 420cm^{-1} 的峰是基于 $\text{Cu}(\text{III})-\text{N}$ (酰胺) 的伸缩振动, 并认为 $\text{Cu}(\text{II})$ 络合物在 388cm^{-1} 附近有由 $\text{Cu}(\text{H}_3\text{G}_4)^{2-}$ 造成的最大峰, 波数增大约 30cm^{-1} 是与高的氧化状态与平面结构时 dx^2-y^2 轨道失去 1 个电子相对应的。

$\text{Cu}(\text{III})$ -肽络合物在中性~碱性时生成, 但在此 pH 范围中不稳定, 分解反应逐渐加快。Stevens 报道了由 $\text{Cu}(\text{II})$ -肽络合物制备 $\text{Cu}(\text{III})$ 络合物的稳定酸性溶液的方法。即, 将二甘氨酸基乙二胺(diglycero ethylene diamine) (2) 的 $\text{Cu}(\text{II})$ 络合物的碱性溶液在电解池中通以过量的电流, 得到了 $\text{Cu}(\text{III})$ 络合物的酸性溶液。这是因为过量的电流在生成 $\text{Cu}(\text{III})$ 络合物的同时, 也

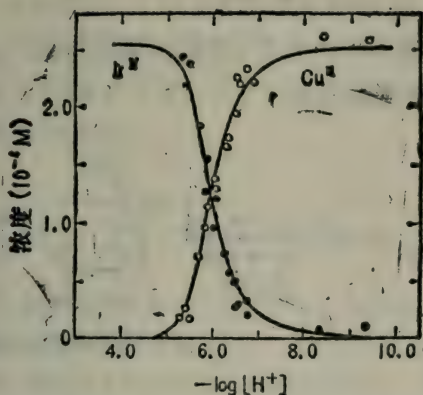


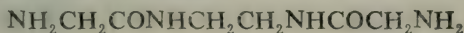
图 3-36 Cu(III)络合物生成与 IrCl_6^{2-} 的消失对 pH 的依赖
 [D.W. Margerum, K.L. Chellappa, F.P. Bossu, G.L. Buroe,
J. Am. Chem. Soc., 97, 6894 (1975)]

○ $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)^-$

● IrCl_6^{2-}

铜络合物及 IrCl_6^{2-} 的总浓度 $2.51 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{I} = 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaClO_4), 25°C

将 H_2O 氧化为 H^+ 与 O_2 的缘故。



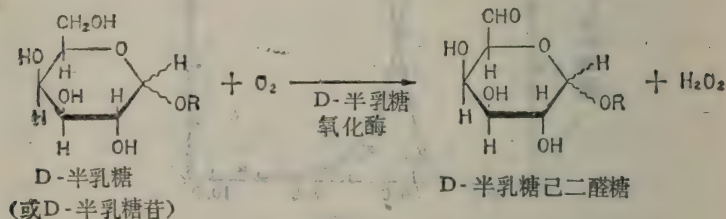
2

同 Cu(III) 状态有关而且颇引人感兴趣的是做为第 2 类铜(非蓝铜)蛋白——半乳糖氧化酶(galactose oxidase) (参见 2.4) 的反应中间体, 有 Cu(III) 存在的可能性。半乳糖氧化酶发现于菌类, 为细胞外蛋白质, 在一分子该蛋白中含有一原子 Cu, 具有催化以分子氧将 D-半乳糖氧化为 D-半乳糖己二醛糖 (D-galacto-hexodialdose) 的作用。此外, 伯醇也被氧化。除去 Cu, 则失去活性; 加上 Cu, 则活性恢复。

Hamilton 注意到以下事实:

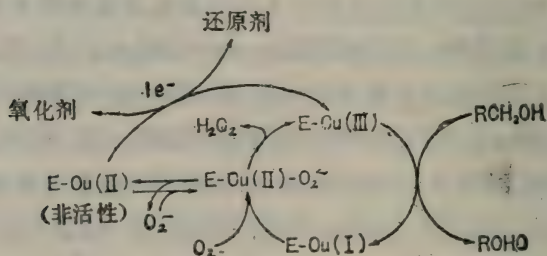
(i) 加入超氧化物歧化酶 (参见 2.4), 则半乳糖氧化酶的反应受到抑制, 其 ESR 信号增强。

(ii) 加入 O_2^- 或 $[Fe(CN)_6]^{3-}$, 其反应速度增大, $[Fe(CN)_6]^{3-}$ 的 ESR 信号则几乎完全消失。



他由这些事实得出结论: $Cu(III)$ 态为重要的反应中间体, $Cu(II)$ 是非活性状态。此外, 在 $[Fe(CN)_6]^{3-}$ 与 $[Fe(CN)_6]^{4-}$ 的存在下, 测定 ESR 光谱和反应速度, 发现 $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ 之比有决定性作用, 当该比值在 10^{-2} 数量级时 ESR 光谱强度达到最大, 反应速度最小, 表现出在氧化状态时具有酶活性。铜的配位基至少有 2 个氮原子 (可能是组氨酸的咪唑氮) 存在。

考虑到肽络合物的 $Cu(III)$ 生成很容易, 则对于这一酶来说, 生成 $Cu(III)$ 也并不勉强。Hamilton 设想 $Cu(III) \rightarrow Cu(I)$ 含有 2 电子还原途径如下:



由 Cu(III) 生成 Cu(I) 时, 必须伴有由平面结构向四面体结构的变化, 这与 $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ 相同。如果在生物体内 Cu(III) 与 Cu(I) 之间的Z电子氧化还原是可能的话, 则没有细胞毒物— O_2^- 的生成, 当然是顺理成章的。曾有人认为酪氨酸酶也是 Cu(III) 状态。也有半乳糖氧化酶存在 Cu(III) 状态的可能性。这些情况都是颇令人感兴趣的。

参 考 书 目

生物无机化学包括化学、生物化学等多个领域, 这方面的研究日新月异, 因此很难将有关文献收集齐全。

现将参考书按以下原则分类: 有关生物化学、无机、络合物化学的参考书列入 A、B; 在不同水平上论述有关生物无机化学一般问题的书籍为 C; 以最近的课题为主的综述列入 D; 刊载有关生物无机化学论文较多的杂志列为 E。

现将主要的文献篇名依次列出, 以期对了解迄今为止的生物无机化学状况有所助益。

A 生物化学

- 1 A.L.Lehninger, Biochemistry—the molecular basis of cell structure and function, 2nd Ed., Worth Publishers(1975)
- 2 H.R.Mahler, E.H.Cordes, Biological chemistry, 2nd Ed., Harper & RowPublishes(1971)
- 3 H.J.M.Bowen, Trace elements in biochemistry, Academic Press(1966)

B 无机、络合物化学

- 1 F.A.Cotton, G.Wilkinson, Advancedinorganic chemistry, 3rd Ed., Interscience Publishes(1972)
- 2 J.E.Huheey. Inorganic Chemistry. Harper &Row Publishers (1972)
- 3 山崎一雄, 山寺秀雄, 无机化学全书, 别卷, 络体(上), 丸善

(1977)

4 A.E.Matell, Coordination chemistry, ACS monograph 168, van Nostrand Reinhold(1971)

5 柴田村治, 错体化学入门, 第3版, 化学同人(1979)

6 山田祥一郎, 配位化学——金属错体化学, 化学同人(1966)

C 生物无机化学

1 M.N.Hoghes, The inorganic chemistry of biological processes, John Wiley & Sons (1972)

2 G.L. Eichhorn, Inorganic biochemistry, Vols.I&II. Elsevier (1973)

3 D.R.Williams, An introduction of bioinorganic chemistry, Charles C. Thomas Publishers(1976)

4 R. P. Hanzlik, Inorganic aspects of biological and organic Chemistry, Academic Press(1976)

5 Ei-ichi Ochiai, Bioinorganic chemistry—an introduction, Allyn & Bacon(1977)

D 有关生物无机化学的综述

1 J.Peisach, P.Aisen, W.E.Blumberg, The biochemistry of copper, Academic Press(1966)

2 R.F.Gould, Bioinorganic chemistry, Advances in chemistry series 160, American Chemical Society(1971)

3 H.Sigel, Metal ions in biological systems, Vols.1—7, Marcel Dekker,

Vol.1 Simple complexes (1974)

Vol.2 Mixed ligand complexes(1973)

Vol.3 High molecular complexes(1974),

Vol.4 Metal ions as probes(1974)

Vol.5 Reactivity of coordination compounds(1976)

Vol.6 Biological action of metal ions(1976)

Vol.7 Iron in model and natural compounds(1978)

- 4 田中文、中原昭次、福井三郎, *Bioinorganic chemistry I, II*, 化学增刊, 61, 68, 化学同人(1974, 1976)
- 5 C.A. McAuliffe, *Techniques and topics in bioinorganic chemistry*, McMillan press (1975)
- 6 J.V. Bannister, *Structure and function of haemocyanin*, Springer-Verlag (1977)
- 7 K.N. Raymond, *Bioinorganic chemistry II*, *Advances chemistry series* 162, American Chemical Society (1977)
- 8 E.E. van Tamelen, *Bioorganic chemistry*, Vols 1—4, Academic Press (1977, 1978)
- 9 日本化学会, 错体化学在生物体系中的研究, 化学总论 No. 20, 学会出版中心(1978)

E 杂志

有关生物无机化学的论文多见于 *J. Am. Chem. Soc. Inorg. Chem.*, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 等杂志。此外, 下列杂志对生物无机化学或有关领域的论文也颇重视。

- 1 *Bioinorganic Chemistry*, Elsevier (从 Vol. 10 开始, 更名为 *J. Inorg. Biochem.*)
- 2 *J. Inorg. Nucl. Chem.*, Pergamon Press
- 3 *Bioorganic Chemistry*, Academic Press
- 4 *Biophysical Chemistry*, North Holland
- 5 *Inorganica Chimica Acta*, Elsevier

译者补充参考书目

- 1 P.M. Harrison, *Metal in biochemistry*, Chapman & Hall Lt& (1980)
- 2 T.G. Spiro, *Nucleic acid-metal ions interactions*, John Wiley & Sons (1980)
- 3 T.G. Spiro, *Copper proteins*, John Wiley & Sons (1982)
- 4 T.G. Spiro, *Iron-sulfur Proteins*, John Wiley & sons (1982)



S0017433

- 5 T.G.Spiro, *Inorganic chemistry of biological processes*, John Wiley & Sons(1981)
- 6 M.N.Hughes, *The inorganic chemistry of biological processes*, John Wiley & Sons(1981)
- 7 H.A.O.Hill, *Inorganic biochemistry*, Vol.1, 2, Royal Society of Chemistry(1981)
- 8 R.W.Hay, *Bioinorganic Chemistry*, R.W.Hay/Ellis Harwood Ltd(1984)
- 9 P. Saltman, *The biochemistry and physiology of iron*, Elsevier Biomedical(1983)
- 10 A.B.P.Lever, *Iron porphyrins*, pt. 1, 2. Addison-Wesley Publishing Company(1983)
- 11 C.A.Owen, *Biochemical aspects of copper*, Noyes Publications(1982)
- 12 René Loutie, *Copper proteins and copper enzymes*, Vol.1, 2. CRC Press Inc(1984)

3	11	2	100	11	31

(100-100-100)

(100-100-100)

100-100-100

100-100-100

收到期	年 月 日
来源	
书价	1.55 (Σ 365.30)
单据号	2854339
开票日期	1989.11.8

90017433

10. A. B. F. Lever, Iron porphyrins, pt. 1, A. B. F. Lever, Publisher, Chicago, 1982

11. C. A. Owen, Biochemical kinetics, C. A. Owen, Publications, 1982

12. René L. L. L., C. A. Owen, Biochemical kinetics, C. A. Owen, Publications, 1982

58.1741

140

013797

书 名 生物无机化学入门

借者姓名	借出日期	还书日期

分 类	编 号
登记号	

读者注意

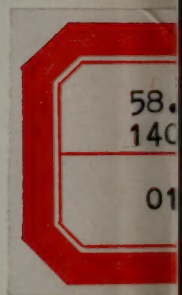
1. 爱护公共图书切勿任意卷折和涂写，损坏或遗失照章赔偿。
2. 请在借书期限前送还以便他人阅读请赐予合作。

成1106-1



责任编辑：王 真 张 蓓

封面设计：徐建东



ISBN7-310-00127-3/Q·4 定价：1.55元